

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Justus Liebig-Hochschule zu Gießen
Direktor: Professor Dr. E. Roots

Die Feststellung des Desinfektionswertes
für „Stecorit“ und „Tego 51“
im exakten Desinfektionsversuch unter Anwendung des
Granatverfahrens

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktor-Grades

bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät

der Justus Liebig-Hochschule

zu Gießen

eingereicht von

GERD LAHDE

Tierarzt aus Stettin

Gießen 1954

LANE MEDICAL LIBRARY
SAN FRANCISCO

Zentral-Verlag für Dissertationen Triltsch Düsseldorf 1954

1954

Mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen Fakultät in Gießen

Dekan: Professor Dr. H. Keller

Berichterstatter: Professor Dr. E. Roots

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Mai 1954

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	7
B. SCHRIFTTUM	
I. Die Desinfektion bei Milchgeräten	7
II. Angaben über die Desinfektionsmittel aus der Literatur und aus Mitteilungen der Herstellerfirmen	9
1. Stecorit	9
2. Tego 51	10
III. Der Desinfektionswert eines Desinfektionsmittels	11
1. Der exakte Versuch	12
2. Der praktische Versuch	12
3. Methoden des exakten Versuches	12
A. Keimträgermethoden	12
B. Suspensionsmethoden	14
4. Zusammenfassung über die Methodik der Prüfungen von Desinfektionsmitteln	16
IV. Der Hemmungswert eines Desinfektionsmittels	17
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
I. Die Desinfektionsmittel	18
1. Stecorit	18
2. Tego 51	18
3. Allgemeines	18
II. Auswahl der Testbakterien und ihre Züchtung	18
1. Escherichia coli	19
2. Staphylococcus pyogenes aureus	19
III. Bestimmung des keimtötenden Wertes	20
1. Das Granatverfahren nach Krönig und Paul	20
2. Wahl der Keimträger im Granatverfahren	20
3. Versuchsanordnung des Abtötungsversuches	22

4. Feststellung der Eiweißempfindlichkeit	24
a. Stecorit	24
b. Tego 51	25
5. Kontrollversuche	25
6. Auswertung der Abtötungsversuche	27
7. Ergebnisse der Abtötungsversuche	28
a. Stecorit	28
b. Tego 51	30
c. Phenol	31
8. Suspensionsversuche	32
 IV. Bestimmung des keimhemmenden Wertes	 33
1. Versuchsanordnung der Hemmungsversuche	34
2. Ergebnisse der Hemmungsversuche	35
a. Stecorit	35
b. Tego 51	36
D. ZUSAMMENFASSUNG	36
E. SCHLUSSFOLGERUNG	37
F. LITERATURVERZEICHNIS	38
G. LEBENS LAUF	40

A. EINLEITUNG

Milch ist ein guter Nährboden für viele Mikroorganismen, die sowohl gesundheitsschädliche Wirkung, als auch sogenannte Milch-, Käse- und Butterfehler verursachen. Von der Keimarmut der Milch hängen in besonderem Maße ihre Güte, Bekömmlichkeit und Haltbarkeit ab.

In die keimfrei aus dem Euter gewonnene Milch gelangen die Mikroorganismen in erster Linie durch die Milchbehälter und alle mit der Milch in Berührung kommenden Geräte, die durch bakterielle Verschmutzung die eingefüllte Milch infizieren.

Gelingt es, die Milchgeräte nach jeweiligem Gebrauch keimfrei zu machen, vermindert sich diese Gefährdung entsprechend. Eine regelmäßige und sorgfältige Desinfektion aller Milchgeräte sollte heute mit allen Ansprüchen der Praxis genügenden Desinfektionsmitteln bei allen Erzeugern und in jedem milchverarbeitenden Betrieb unbedingt durchgeführt werden, um die Milchgeräte in einen nicht nur „sauberen“, sondern möglichst keimarmen Zustand zu bringen.

Von zwei im Handel befindlichen Mitteln zur Entkeimung von Milchgeräten waren uns widersprechende Angaben bekannt geworden. Das stellte den Anlaß dar, ihre keimtötende Wirkung zu prüfen.

Bei den zur Prüfung vorliegenden Präparaten handelt es sich um:

„STECORIT“ — von der Firma Steding & Co., Hannover,

In den Kämpfen 2, und

„TEGO 51“ — der Th. Goldschmidt A.G. (Chemische Fabrik), Essen.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, im exakten Desinfektionsversuch die keimtötende Wirkung und im Hemmungsversuch die keimhemmende Wirkung der Präparate auf die als Testbakterien ausgewählten Mikroorganismen festzustellen und damit den Desinfektionswert zu ermitteln.

B. SCHRIFTTUM

I. DIE DESINFEKTION BEI MILCHGERÄTEN

Wie eingangs erwähnt, ist die hauptsächliche Quelle der bakteriellen Verunreinigung der Milch die Gesamtheit der Milchgeräte.

Die bakteriellen Verunreinigungen sind durch Spülung und gewöhnliche Reinigung der Geräte allein nicht zu entfernen, sondern nur durch deren Desinfektion. KLIMMER und SCHÖNBERG (1947) weisen darauf hin, daß die immer wieder vorkommende Verschmutzung der Milch, z. B. mit Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe, nicht zuletzt auf die verschmutzten Ge-

fäße und Gerätschaften (Melkeimer, Kannen, Bürsten usw.) zurückzuführen ist, und daß eine genügende Entkeimung durch Ausschneuern mit heißer Sodalösung allein meist nicht erreicht werden kann.

Auch die in den Molkereien vielfach übliche Reinigung mit verschiedenen Reinigungsmitteln kann nicht genügen, eine ausreichende Keimarmut der Geräte herbeizuführen (SCHONBERG 1952). Gerade bei einer großen Zahl der Geräte, mit denen die Milch in Berührung kommen kann, ist es unbedingt notwendig, eine Desinfektion aller Gerätschaften durchzuführen.

Wenn die Bakterien zudem durch unterlassene sofortige Spülung der Geräte in eingetrockneten Milchresten eingeschlossen sind und durch die große Haftfähigkeit des Kaseins fest an den Flächen der Geräte haften, sind sie nur durch ein gewisses Eindringungsvermögen der Desinfektionsmittel bei genügend langer Einwirkungszeit abzutöten.

Der Einfluß des Verfahrens der Reinigung der Milchgeräte auf den Keimgehalt der Milch ist aus folgenden Angaben von BURRI und CARLBERG ersichtlich:

In einem Melkeimer waren, nachdem

mit kaltem Wasser flüchtig gespült	56 Mill. Keime
mit kaltem Wasser sorgfältig gespült	10 Mill. Keime
mit kaltem Wasser gut gebürstet	4 Mill. Keime
mit kaltem Wasser gut gebürstet und kalt gespült	1 Mill. Keime
mit kaltem Wasser gut gebürstet und heiß gespült	640 Tsd. Keime
mit heißer Sodalösung gut gebürstet u. kalt gespült	40 Tsd. Keime.

Eine Desinfektion hat in allen Fällen nicht stattgefunden. Bei der Verwendung steriler Gefäße betrug der Keimgehalt nach PRUCHA, HARDING und WEETER in 1 ccm nur 4000 Keime. Sterilisierte Gefäße können in der Milchwirtschaft natürlich nicht gefordert werden; durch Desinfektion keimarm gemachte Gefäße werden den Keimgehalt jedoch auf einem relativ niedrigen Wert halten.

Hinsichtlich der Keimzahl werden an die Vorzugsmilch, die ja ohne Erhitzung an den Verbraucher gelangt, besondere Anforderungen gestellt.

Nach der Preußischen Verordnung für Vorzugsmilch, Art. IV, § 38, 1 dürfen bei der Abgabe an den Verbraucher nicht mehr als 150 000 Keime in 1 ccm enthalten sein, es dürfen ferner nicht mehr als 30 Colikeime in 1 ccm sein.

Diese Anforderungen können nur bei ausreichender Desinfektion der Gerätschaften erfüllt werden.

In der Preußischen Verordnung zur Durchführung des Milchgesetzes vom 31. Juli 1930 im Art. IV (Vorzugsmilch), § 39,7 (wie auch in entsprechenden Verordnungen anderer Länder), ist deshalb festgelegt: „Melkmaschinen, Milchsiebe oder Milchreinigungsapparate, Kühler, Rohrleitungen, Aufbewahrungsgefäße und Abfüllvorrichtungen sind nach jedem Gebrauch gründlich zu reinigen und zu desinfizieren“.

Selbstverständlich enthält die Milch auch bei sauberer Gewinnung eine Beimengung von Bakterien; doch ist diese vom Grad der Sauberkeit des Melkens abhängig. Durch Zusammenwirken peinlicher Sauberkeit im Stall, sauberen Melkens und nicht zuletzt durch den Ausschluß nachträglicher Verunreinigung seitens der Milchgeräte kann die Milch weitgehend keimarm gehalten werden.

II. ANGABEN ÜBER DIE DESINFEKTIONSMITTEL AUS DER LITERATUR UND AUS MITTEILUNGEN DER HERSTELLERFIRMEN

1. Stecorit

Stecorit stellt ein „Spezial Natriumhypochlorit“ dar, das zur Beseitigung der korrodierenden Eigenschaften des gewöhnlichen Natriumhypochlorits Zusätze von korrosionsverhindernden Mitteln enthält. Das Präparat wirkt jedoch ätzend auf Haut und Schleimhaut.

Stecorit soll als Momentdesinfektionsmittel zur Desinfektion milchwirtschaftlicher Geräte unmittelbar vor dem Melken angewendet werden, wodurch nachträgliche Infektionen der Geräte mit Luftkeimen zwischen den einzelnen Melkzeiten vermieden werden. Der Hersteller ist der Auffassung, daß Reinigung und Desinfektion in einem Arbeitsgang die nachträgliche Infektion bis zur Wiederverwendung außer acht lassen.

Stecorit hat keine reinigende Wirkung. Die Firma schreibt aus diesem Grunde vor, nach dem Gebrauch die Geräte mit dem von der gleichen Firma hergestellten „BFK“ Reiniger (DLG-Gütezeichen Nr. 621) zu reinigen und sie vor erneuter Verwendung mit Stecorit zu desinfizieren, wobei auf eine Nachspülung mit Wasser verzichtet werden kann.

Stecorit kommt als chlorhaltige, gelbliche Flüssigkeit in Plastikbeuteln verpackt in den Handel; die angegebene Gebrauchsanweisung besagt, daß ein Beutel, der ca. 20 ccm Stecorit enthält, mit 10—12 Ltr. Wasser zu verdünnen ist, was einer Gebrauchskonzentration von etwa 0,2% entspricht.

Einem Schreiben des Institutes für Milchhygiene der Bundesversuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel vom 12. Juni 1953, welches mir die Herstellerfirma (STEDING & Co. 1953) im Auszug zur Verfügung stellte, entnehme ich folgende Angaben:

Die Prüfungen für Stecorit wurden vorgenommen im

1. Suspensionsversuch,
2. praktischen Desinfektionsversuch und in
3. orientierenden Korrosionsversuchen.

Der Aktivchlorgehalt betrug 10,2%, nach vierwöchentlicher Lagerung im Karton 9,2%.

Im Suspensionsversuch wurde gegenüber sechs Keimarten (*Bact. coli*, *Bact. pyocyaneum*, *Staphyl. aureus*, *Str. glycerinaceus*, *Mycobact. phlei*, *Oospora lactis*) in wässriger Stecoritlösung von 0,1% ($p_H = 8,5$) und von 0,2% ($p_H = 8,7$) die abtötende Wirkung festgestellt.

Die dem Desinfektionsmittel zugesetzten Bakterienkulturen wurden nach Einwirkungszeiten von $\frac{1}{4}$ —20 Minuten in ein geeignetes flüssiges Nährmedium abgeimpft. Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte nach 24- bis 72stündiger Bebrütung bei der für die Bakterien optimalen Temperatur von 30 bzw. 37° C.

Im Suspensionsversuch wurde eine einheitliche Abtötungszeit von $\frac{1}{4}$ Minute bei Zimmertemperatur (20° C) festgestellt. Zur Auswertung der Tabelle heißt es in dem Bericht, daß Stecorit in 0,1- und 0,2%iger Lösung in vitro „eine recht gute keimtötende Wirkung“ hat.

In 0,2% Milch enthaltender Lösung, also in Gegenwart von Eiweiß, wird die Wirkung bei 20° C aufgehoben. Die Firma schreibt aus diesem Grunde vor, daß die Geräte vor der Anwendung des Stecorit gründlich von allen Milch- und Eiweißresten zu befreien sind.

Im praktischen Desinfektionsversuch wurde Stercorit mit dem automatischen SAC.(Effektiv)-Reinigungsapparat geprüft. Melkbecher und Eimer, die 24 Stunden vorher mit Rohmilch versetzt worden waren, wurden drei Minuten mit lauwarmen Wasser gespült und anschließend mit einem anerkannten Reinigungsmittel bei 40—45° C durch Umwälzen gereinigt. Anschließend wurden die Geräte mit lauwarmen 0,2%iger Stercoritlösung drei Minuten desinfiziert.

Die Kontrolle der Wirkung erfolgte durch Tupferabstriche, Keimzahlbestimmung aus den Spülflüssigkeiten und durch Bestimmung des Colititers. Nach der Auswertung der Tabelle des Berichtes waren die Melkzeuge und Kannen praktisch keimfrei.

Die wirksame Substanz des Stercorit, das Natriumhypochlorit, ist als gutes Desinfektionsmittel bekannt. Es bewirken wässrig gelöste organische Stoffe allerdings eine Herabsetzung der Desinfektionswirkung bei Chlorpräparaten (DAHMEN 1941).

Die desinfizierende Wirkung des Hypochlorits beruht auf einer gekoppelten Reaktion, die durch die Gegenwart oxydabler Substanzen ausgelöst wird. Daraus erklärt es sich, daß die Gegenwart organischer Substanzen jeder Art diese Reaktion auslöst, wodurch die Desinfektionswirkung des Hypochlorits erheblich gestört wird. Die vorgeschriebene Reinigung der Geräte bezweckt, die konkurrierenden organischen Substanzen zu entfernen, damit das Oxydationsmittel allein auf die Bakterien einwirken kann.

2. Tego 51

Tego 51 gehört zu den amphoteren oberflächenaktiven Stoffen, die als Wasch- und Desinfektionsmittel Anwendung finden. Tego 51 stellt eine Kombination von großer bakterizider Wirkungsbreite mit guter Netzkraft und großem Schmutztragevermögen dar, wodurch eine einwandfreie Reinigung und Desinfektion bewirkt werden soll.

Als antibakterielle Wirkstoffe werden höhermolekulare Aminosäuren angegeben, der Wirkstoff enthält keine niederen Kohlenwasserstoffreste oder verzweigte Ketten (SCHMITZ 1952). Das Präparat ist unbegrenzt haltbar.

Die Desinfektion der Milchgeräte wird laut Anwendungsvorschrift nach vorausgegangener Reinigung durch Besprühen, Spülen oder Ausschwenken mit kalter 1%iger Tego-51-Lösung vorgenommen und mit Wasser gut nachgespült. Für die Geräte des Milchhofes wird Tego 51 als Desinfektionsmittel wegen seiner guten Netzwirkung empfohlen. In den Gebrauchslösungen von 1- und 3% greift es die in der Milchwirtschaft benutzten Metalle nicht an (BENK 1952). Durch das Schmutztragevermögen werden die in der oft sehr kurzen Zeitspanne des Desinfektionsvorganges nicht abgetöteten Keime, wenn sie einmal von der Unterlage abgehoben sind, weggeschwemmt und nicht wieder an anderer Stelle abgelagert (SCHMITZ 1952).

Tego 51 beeinträchtigt die milchwirtschaftliche Verarbeitung in geringer Menge nicht (z. B. die Labgerinnung). Die toxikologische Unbedenklichkeit ist nach Angabe der Herstellerfirma durch L. Lendle im Pharmakol. Institut der Universität Göttingen festgestellt.

Im allgemeinen geben die Ampholytseifen mit Eiweiß keine Fällung, sondern höchstens eine Trübung, wobei die einzelnen Proteine gewisse Unterschiede aufweisen. Es tritt keine feste Adsorption an Eiweiß ein, so daß die bakterizide Wirkung nicht vollkommen aufgehoben wird (SCHMITZ 1952).

In der Literatur liegen zahlreiche Veröffentlichungen über Tego 51 vor, die zumeist Feststellungen und Versuche unter praktischen Verhältnissen wiedergeben (Raum- und Händedesinfektion, Desinfektion von Milchgeräten, Milchflaschen, der Euter und Zitzen, Verwendung in der Fisch- und Fleischindustrie).

Einer Prüfung BENK's (1952) zufolge ist Tego 51 eine klare, gelblich-braune, wässrige Lösung von Hypochloriten höhermolekularer Aminosäurederivate. Beim Schütteln und Kochen entsteht starke Schaumbildung. Die Reaktion gegen Lackmus ist alkalisch, der p_H -Wert mit Merck's Indikatorpapier lag bei 8,5; das spezifische Gewicht bei 15° C betrug 1,0029. Der p_H -Wert der 1%igen Verdünnung war 7,2 und der 3%igen Verdünnung 7,5.

Tego 51 hat eine starke Pufferwirkung. Gegen hartes Wasser (Kalk- und Magnesiumsalze) sowie gegen thermische Einwirkungen ist es völlig unempfindlich.

Im Suspensionsversuch wurde u. a. von GISSKE (1952) die keimtötende Wirkung bei in der Milch vorkommenden Bakterien festgestellt (u. a. *Micrococcus aureus*, *M. citreus*, *Escher. coli*, *Proteus*). Von den durch Faltenfilter filtrierten Aufschwemmungen (3 Osen auf 4 ccm physiol. NaCl-Lösung) wurden zwei Tropfen den Desinfektionslösungen zugesetzt und nach Einwirkungszeiten von 1—30 Minuten 1 Ose auf Nähragar und als Kontrolle 0,1 ccm in 10 ccm Bouillon verimpft. Nach 24—48 Stunden wurden die Kulturen auf Wachstum geprüft.

Tego 51 bewirkte im Suspensionsversuch bei Zimmertemperatur (20 bis 22° C) Abtötung der überimpften vegetativen Keime nach einminütiger Einwirkungszeit, *Proteus* wurde erst bei 40° C abgetötet. Sporen wurden erst in höherer Konzentration (5%) und höherer Temperatur (60° C) abgetötet.

Wachstumshemmung der vegetativen Keime lag in Bouillon in 48 Stunden bei einer Temperatur von 30° C bei 0,1%iger Lösung vor.

In einem Gutachten des Hygiene-Institutes der Universität Münster vom 9. 6. 1952 (BRAUSS 1952) wurde im Rideal-Walker-Test (als Testorganismus diente *Salmonella typhosa* Lister — National Collection of Types Cultures, London) der Phenolkoeffizient für Tego 51 (Wirkstoffgehalt 10%) ermittelt. In der Verdünnung des Wirkstoffes 1 : 20 000 und Phenol (rein) 1 : 110 wurde in 7½ Minuten Abtötung erreicht. Der Phenolkoeffizient beträgt somit für den in Tego 51 gelösten Wirkstoff = 182.

Die Ampholytseifen haben infolge ihrer geringen Oberflächenspannung eine größere Tiefenwirkung und erfassen auch die in kleinsten Poren befindlichen bakteriellen Herde. Allerdings kann die Wirkung durch anionenaktive Stoffe (Seifen, sowie Phosphate und Silikate) weitgehend gehemmt bzw. aufgehoben werden (GISSKE 1952).

LONCIN und FORSTER halten die Ampholytseifen wegen ihrer großen Desinfektionswirkung, der relativ geringen Empfindlichkeit gegen organische Substanzen und der langanhaltenden bakteriostatischen Wirkung in der Milchwirtschaft den chlorhaltigen Desinfektionsmitteln für überlegen.

III. DER DESINFEKTIONSWERT EINES DESINFEKTIONSMITTELS

Der Wert eines Desinfektionsmittels ergibt sich aus der Feststellung der Mindestmenge, welche die Bakterien in einer bestimmten Einwirkungszeit abtötet (Desinfektionswert) und der Menge, die die Vermehrung der Bak-

terien hemmt (Hemmungswert); aus diesen beiden Werten kann die bakterizide und bakterio statische Wirkung eines Desinfektionsmittels ermessen werden.

Bei der Feststellung des Desinfektionswertes durch den Abtötungsversuch wird zwischen dem „reinen oder exakten“ und dem „angewandten oder praktischen“ Versuch unterschieden.

1. Der exakte Versuch

Die Bestimmung des Desinfektionswertes eines Desinfiziens wird im Laboratorium im „exakten Desinfektionsversuch“ vorgenommen.

REICHEL (1931) stellt fest: „In exakten Desinfektionsversuchen muß ein genau bekanntes, geeignetes Testmaterial von Mikroorganismen der zu prüfenden, genau dosierten Schädlichkeit gegenüber bei konstanter Temperatur und unter Vermeidung oder Berücksichtigung störender Nebenumstände, gleichmäßig, d. h. für jedes Keimindividuum gleichzeitig und gleichstark exponiert und die Wirkung auf die Entwicklungsfähigkeit der Keime nach peinlich genauer Beseitigung der Schädlichkeit, fallweise nach Anwendung der möglichen Gegenmittel, durch Herstellung der als beste bekannten Entwicklungsbedingungen der Beobachtung zugänglich gemacht werden.“ Allein der exakte Versuch sei dazu berechtigt, den Desinfektionswert eines Mittels, d. h. die „Maßzahlbeziehung zu seiner Konzentration und der von den Keimen nicht mehr überlebten Einwirkungsdauer“ festzustellen,

Ein solcher Versuch liefert nach JANKE (1946) einen „rein ideellen Wert“. Dieser muß jedoch in jedem Falle ermittelt werden, um aus den Ergebnissen des exakten Versuches grundlegende Angaben über die Wirkungsweise und Wirkungsbreite eines Mittels zu erhalten und Schlüsse auf die praktische Anwendung ziehen zu können.

2. Der praktische Versuch

Im „angewandten Versuch“ wird die keimtötende Wirkung unter Berücksichtigung der Verhältnisse in der Praxis ermittelt.

Diese „praktische Erprobung“ leidet darunter, daß vor allem das Desinfektionsgut qualitativ und quantitativ unbestimmt und stets wechselnd ist.

Versuchsanordnungen, die den praktischen Verhältnissen Rechnung tragen, somit alle angewandten Versuche, eignen sich auch nicht zu vergleichenden Desinfektionsversuchen; dazu ist ebenfalls allein der exakte Versuch heranzuziehen.

3. Methoden des exakten Versuches

Zur Feststellung des Desinfektionswertes werden verschiedene Methoden herangezogen, die sich in Keimträgerverfahren und Suspensionsverfahren unterteilen.

A. Keimträgermethoden

a. Seidenfadenverfahren

Die älteste Methode, das Seidenfadenverfahren von R. KOCH (1881), ist ein Antrocknungsverfahren, das als Keimträger Seidenfäden benutzt.

Die Versuchsanordnung verstößt gegen die Forderung voller Gleichmäßigkeit und zeitlicher Unterbrechung der Exposition (REICHEL 1931).

Nach LAUBENHEIMER (1909) sind weitere Nachteile, daß die Seidenfäden chemische Mittel adsorbieren und somit die Einwirkungszeit trotz der Abspülung verlängern. Außerdem können Zufälligkeiten, wie Dicke der Fäden oder Lagerung der Keime im Innern des Fadens, die Einwirkung des Desinfiziens beeinflussen.

Die Ergebnisse können demnach teils zu Ungunsten, teils zu Gunsten des Desinfektionsmittels beeinflußt werden, indem das Mittel die Bakterien nicht erreicht oder in der Nachkultur entwicklungshemmend wirkt.

Das Seidenfadenverfahren bietet allerdings nach KLIMMER (1923) den Vorteil, daß es einen gewissen Einblick in die Tiefenwirkung des Mittels gestattet, die oftmals in der Praxis verlangt werden muß.

b. Granatverfahren

Mit dem Granatverfahren von KRONIG und PAUL (1897) ist eine exakte Methode aufgestellt worden. Die Methode greift auf die Trocknung der Keime zurück, vermeidet jedoch gröbere Ungleichmäßigkeiten der Exposition und die Schwierigkeiten der Entfernung der Giftreste durch die Wahl von gereinigten Triergranaten als Unterlage an Stelle von Seidenfäden. Durch genaue Vorschrift der Bereitung der Suspension und der Trocknung wird eine gleichmäßig dünne Schicht trockener Keime erzielt (REICHEL 1931).

Die Zahl der Keime muß in jedem Desinfektionsversuch so groß sein, daß die Anwesenheit maximal resistenter Keime gesichert erscheint (JANKE 1946). Da bei einer größeren Zahl abzutötender Keime, deren Menge auch beim Granatverfahren die Desinfektionswirkung beeinflußt (DAHMEN 1941), die Konzentration des Mittels höher bzw. die Einwirkungszeit eine längere sein muß, soll die Keimmenge angegeben werden (KLIMMER 1923).

Die Unterbrechung der Desinfektionswirkung wird im Granatverfahren — da das Desinfiziens nicht in die Granaten eindringt — ohne besondere neutralisierende Entgiftung durch sorgfältiges Abspülen der Testobjekte in sterilem destillierten Wasser (LAUBENHEIMER 1909) oder leicht alkalischer physiologischer Kochsalzlösung (KLIMMER 1923) schnell und sicher erreicht. Damit kann in diesem Verfahren auf eine besondere Entgiftung verzichtet werden, zumal der Entgiftung des Desinfektionsmittels „nicht ohne Grund vorgeworfen wird, daß sie der Praxis abweichende Verhältnisse schafft. Es werden die schon in das Innere der Bakterien eingedrungenen und an das Protoplasma gebundenen Desinfektionsmittel wieder daraus entfernt“ (KLIMMER 1923).

Eine Abspülung muß jedoch im Granatverfahren erfolgen, damit keine Reste des Desinfiziens in die Nachkultur übertragen werden.

Zur Nachkultur verwenden KRONIG und PAUL feste Nährböden, mit denen die Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien, somit auch die partielle Abtötung festgestellt werden kann.

BEHRING (1894) u. a. Autoren verwenden zur Nachkultur flüssige Nährböden, mit denen nicht die Zahl der nach einer bestimmten Einwirkungszeit keimfähig gebliebenen Bakterien, sondern die Zeit festgestellt wird, in der alle Keime abgetötet worden sind. Krönig und Paul wählten vor allem deshalb den festen Nährboden, weil einzelne Individuen besonders widerstandsfähig oder durch Zufälligkeiten dem Einfluß des Desinfektionsmittels entzogen sein können. Bei Verwendung flüssiger Nährböden zur

Nachkultur werden jedoch alle der Desinfektionswirkung ausgesetzt gewesenen Bakterien erfaßt; der Desinfektionswert wird bei Abtötung aller Keime im vollständigen Abtötungsversuch ermittelt.

In allen Desinfektionsversuchen sollen die Nährböden der Nachkultur den Keimen optimale Entwicklungsmöglichkeit bieten, wobei zudem die optimale Wachstumstemperatur einzuhalten ist. Die vollkommen gleichmäßige Beschaffenheit der Nährböden muß durch Verwendung aus einer Herstellung gewahrt werden. SCHNEIDER und SELIGMANN (1908) fanden bei der Verwendung des gleichen, aber zu verschiedenen Zeiten hergestellten Nährbodens, bei an Strichplatten angetrockneten Staphylokokken in 1%iger Lysollösung Abtötungszeiten von 5 Minuten bis zu 1 Stunde.

c. Andere Keimträgermethoden

Zahlreiche in der Literatur beschriebene Keimträgermethoden haben wegen der ihnen anhaftenden Versuchsfehler ihre Bedeutung verloren.

Ein öfter geübtes Verfahren ist das Batistverfahren nach HAILER (1920), bei dem Batistläppchen (8 x 12 mm) in eine Bakterienaufschwemmung eingelegt werden. Die Aufschwemmung dringt in die Läppchen ein, es werden zahlreiche Keime in das Gewebe aufgenommen. Diese Methode verzichtet auf die Antrocknung der Keime, es haften ihr jedoch einige der beim Seidenfadenverfahren beschriebenen Fehlerquellen an. Das Verfahren bietet wiederum die Möglichkeit, die Tiefenwirkung eines Mittels zu ermessen, weil es in das Gewebe eindringen muß, um die Keime zu erreichen.

B. Suspensionsmethoden

a. Suspensionsverfahren

Im Suspensionsverfahren werden frisch bereitete, filtrierte Bakterienaufschwemmungen in nicht festgelegter Dichte und Menge der Desinfektionsmittellösung zugesetzt und nach bestimmten Zeiten durch Abimpfung auf feste oder in flüssige Nährböden die Abtötung der Keime festgestellt.

In der an sich einfacheren Methodik der Suspensionsverfahren besteht die größte Schwierigkeit in der Unterbrechung der Desinfektionswirkung vor dem Einbringen der Testbakterien in die Nachkultur. Eine sichere Unterbrechung muß aber in jedem exakten Desinfektionsversuch unbedingt erreicht werden, um Nachwirkungen des Desinfiziens zu verhindern.

Die Unterbrechung der Desinfektionswirkung kann nur durch Neutralisierung der wirksamen Substanz — ohne die Testkeime selbst zu schädigen — erreicht werden. Es darf die Entgiftung nicht weggelassen werden, da in diesem Verfahren das Auswaschen wegfällt (KLIMMER 1923); das Desinfektionsmittel „ist unbedingt zu neutralisieren“ (GRUBER 1892).

LAUBENHEIMER (1909) weist darauf hin, daß es im Suspensionsverfahren meist nicht mehr gelingt, das Desinfiziens aus dem Gemisch mit der Bakteriensuspension zu entfernen. Es wird also immer eine gewisse Menge der schädigenden Substanz in die Nährböden der Nachkultur übertragen. Bei der Verwendung fester Nährböden wird die volle Konzentration des Mittels, bei flüssigen Nährböden (infolge Verdünnung durch den Nährboden) eine entsprechend geringere Dichte die Nachkultur beeinflussen, so daß auch in letzteren eine Nachwirkung nicht vollkommen ausgeschlos-

sen werden kann. Geschwächte Keime werden dadurch oft nicht mehr zur Entwicklung gelangen und somit eine Abtötung nur vortäuschen. Selbst die Einsaat frischer Keime in die Nachkultur und deren Wachstum würde eine Hemmungswirkung seitens des Nährbodens nicht ausschließen. Die durch das Desinfiziens geschwächten — aber nicht abgetöteten — Keime sind leichter zu hemmen als frische Kulturen (GEPPERT 1889, LAUBENHEIMER 1909 u. a.).

Da die Neutralisation im Suspensionsverfahren die größten Schwierigkeiten macht, haben SCHNEIDER und SELIGMANN (1908) ein „Buckelröhrchen“ entwickelt, das sich nach KLIMMER (1923) zur Neutralisation des Bakterien-Desinfiziens-Gemisches eignet. Die Wahl des Entgiftungsmittels wird jedoch in den meisten Fällen sehr schwierig sein.

Die im Suspensionsverfahren ermittelten Abtötungszeiten sind meist kürzer als bei einem Keimträgerverfahren; denn auf die in Flüssigkeit suspendierten Keime wirkt das Desinfektionsmittel allseitig ein, an einem Keimträger haftend nur auf die freien Seiten.

Für die Prüfung auf im Suspensionsverfahren lebensfähig gebliebene Bakterien ist die Menge der Abimpfung von größter Bedeutung für den Desinfektionswert.

Nach GRUBER (1892) darf nicht nur eine Ose abgeimpft werden, sondern 5 bis 10 ccm des Gemisches müssen auf das Vorhandensein lebensfähiger Keime geprüft werden. Die im Suspensionsverfahren geprüfte Menge ist in vielen Fällen zu klein, als daß man entscheiden könnte, ob die Abtötung aller Keime erfolgt ist.

Bei der Verwendung von Bouillonkulturen als Ausgangskultur der Testbakterien im Suspensionsverfahren liegt stets die Gegenwart der die Desinfektionswirkung beeinflussenden Nährstoffe vor (REICHEL 1931), so daß kein exakter Versuch möglich ist.

Das Suspensionsverfahren wurde von verschiedenen Autoren wegen der angeblich geringen Trockenresistenz der sporenlosen Mikroorganismen gefordert. Wenn auch bei der Antrocknung im Keimträgerverfahren ein Teil der Keime zu Grunde gehen mag, so wird doch den unentbehrlichen Kontrollversuch (mit nicht in der Desinfektionslösung behandelten Testobjekten) bewiesen, daß auch unter den nicht sporenbildenden Mikroorganismen eine genügende Widerstandsfähigkeit gegen die Antrocknung vorliegt. KLIMMER (1923) stellte zudem fest, daß gerade in Flüssigkeiten suspendierte Keime weniger widerstandsfähig sind, als an Granaten angetrocknete.

Zahlreiche Variationen des Suspensionsverfahrens stellen zumeist keine wesentlichen Änderungen des Verfahrens an sich dar, so daß die Mängel der Methode zum Teil bestehen bleiben.

b. Rideal Walker Test

Die in England zur amtlichen Prüfung anerkannte und auch bei uns öfter angewandte „Rideal-Walker-Methode“ ist ein Suspensionsverfahren, in dem das zu prüfende Mittel mit Phenol verglichen wird. Der Karbolsäurekoeffizient errechnet sich als Quotient aus der Konzentration des Mittels und der des Phenols, die unter gleichen Bedingungen innerhalb derselben Zeit Thyphusbakterien abtöten. Der Mangel dieses Verfahrens liegt nach KLIMMER

(1923) darin, daß Präparate jeder Art mit Phenol verglichen werden sollen. Nach ANDERSON und Mc. CLINTIC (1911) kann zudem je nach der Wahl der Phenolkonzentration ziemlich jedes Ergebnis erhalten werden, das man bekommen will. Wesentlich ist, daß auch bei diesem Verfahren — wie oft in den Suspensionsverfahren — die Einsaatmenge der Bakterien zu klein ist und damit namentlich die Zahl der resistenten Keime zu gering ist. Das zur Nachkultur vorgeschriebene englische Pepton mit hohem Extraktgehalt bietet außerdem kein optimales Nährmedium (OSTERTAG 1952).

Die der vorstehenden Methode ähnliche „Lancet-Methode“ und die „Hygienic laboratory Phenolkoeffizient method“ haben wohl nur in England und Amerika Bedeutung erlangt.

4. Zusammenfassung über die Methodik der Prüfung von Desinfektionsmitteln

Schon 1908 vertreten SCHNEIDER und SELIGMANN den Standpunkt, daß eine volle Einheitlichkeit der Methodik angesichts der verschiedenen Umstände und Zwecke nicht zu erreichen sei.

In den Jahren seit den von R. KOCH mit einer brauchbaren Methode durchgeführten Versuchen sind ungezählte Verfahren zur Bestimmung des desinfektorischen Wertes veröffentlicht worden. Die meisten dieser Verfahren haben ihre Bedeutung verloren, weil ihnen erhebliche Fehler anhaften.

Es gibt auch heute noch keine allgemein anerkannte Methodik; die einzelnen Verfahren werden nebeneinander angewandt. Damit kommt es auf Grund der unterschiedlichen Testmethoden mit ihren mannigfaltigen Variationen zu teilweise widersprechenden Ergebnissen auch bei den gleichen Präparaten (NAUMANN 1952).

Gewisse Unterschiede werden immer auftreten, weil die Desinfektionsmittel auf lebende Bakterien einwirken, ohne daß wir immer wissen, welche biologischen Vorgänge an oder in den Bakterien ablaufen. Es kann deshalb nicht erwartet werden, daß der Desinfektionsvorgang mit der „Konstanz einer chemischen Reaktion“ abläuft (OSTERTAG 1952).

Die Ergebnisse eines exakten Desinfektionsversuches werden dessen Bedeutung immer bestätigen. Das Bestreben der Untersucher muß deshalb darauf ausgerichtet sein, in einer genau festgelegten und in jedem Falle genau beschriebenen Methodik, unter möglichst vollständiger Annäherung der Versuchsanordnung an die grundsätzlichen Forderungen des „exakten Desinfektionsversuches“, den Desinfektionswert eines Präparates zu ermitteln.

Bei der Auswahl einer Methode zur exakten Prüfung im Laboratorium sollte man sich, wie es schon LAUBENHEIMER (1909) betont, nicht von der Umständlichkeit einzelner Verfahren (z. B. das Granatverfahren) abhalten lassen und an seiner Statt schnellere, aber in der Beurteilung eines Desinfektionsmittels ungenauere und unsichere Verfahren wählen.

Es würden damit nur angenäherte Werte ermittelt werden, die nicht dem wirklichen Desinfektions-(Abtötungs-)Wert entsprechen, der allein mit Angabe der wirksamen Konzentration und der notwendigen Einwirkungszeit entscheidend für die Anwendung eines Mittels in der Praxis ist.

IV. DER HEMMUNGSWERT EINES DESINFEKTIONSMITTELS

Unter dem Hemmungswert eines Desinfektionsmittels versteht man die zur Verhinderung der Vermehrung der Testbakterien eben ausreichende Konzentration eines Mittels. Der Begriff der Entwicklungshemmung legt fest, daß eine bestimmte Konzentration des Desinfiziens die Keime in ihrer Vermehrung so lange hemmt, wie sie unter dem Einfluß des schädigenden Mittels stehen, daß sie sich aber nach Aufhebung des Einflusses und unter optimalen Wachstumsbedingungen erneut vermehren. Der Gegensatz zur Abtötung — auch unter optimalen Bedingungen der Nachkultur kein Keimwachstum — ist also deutlich.

Der Begriff der Entwicklungshemmung war nicht immer einheitlich. Nach R. KOCH (1881), der den Begriff der Hemmung in die Lehre der Desinfektion eingeführt hat, ist zwischen „Entwicklungshemmung“ und „Anfang der Behinderung im Wachstum“ zu unterscheiden (LAUBENHEIMER 1909).

Die Hemmungsversuche werden meist in flüssigen Nährböden durchgeführt. Während bei der „Entwicklungshemmung“ keinerlei sichtbares Wachstum in der Beobachtungszeit eintreten darf, wird unter „Behinderung im Wachstum“ die Konzentration eines Desinfiziens verstanden, bei der eine das Wachstum verzögernde Wirkung eintritt. Hierzu wird durch Abimpfen zu verschiedenen Zeiten die fortwährend steigende Keimzahl bestimmt; es kommt jedoch in kurzer Zeit zu uferloser Vermehrung. DAHMEN (1941) bezeichnet dies als „Entwicklungsbehinderung“.

Hinsichtlich der verschiedenen Beurteilungsmodi könnte man die Bezeichnung „relative Hemmung“ (das Wachstum ist verzögert) und „absolute Hemmung“ (das Wachstum sistiert) gebrauchen.

Für den Hemmungswert kommt weniger die Zeit der Einwirkung in Betracht als die Konzentration der Desinfektionsmittel (KRONIG und PAUL 1897). Er hängt wie der Abtötungswert von der Art der Keime, der Versuchstemperatur und der Art des Mediums ab, in dem das Mittel auf die Bakterien einwirkt. Es vermögen z. B. die Art der Nährstoffe oder der p_H -Wert den Hemmungswert zu verschieben (REICHEL 1931). Optimale Nährböden können nur dann verwendet werden, wenn sie mit den Mitteln nicht in Reaktion treten (Ausfällung, p_H -Änderung usw.).

Die Versuchstemperatur muß konstant gehalten werden, denn bei steigender Temperatur ist einerseits das Desinfiziens stärker wirksam, andererseits aber auch die Vermehrung der Bakterien gesteigert.

Die allgemeinen Voraussetzungen im Hemmungsversuch sind die gleichen wie im Abtötungsversuch (Reinkulturen der Testbakterien, Temperatur usw.); es muß auch hier die Stärke der Infektion angegeben werden, da bei einer größeren Einsaat die vollständige Hemmung schwieriger zu erreichen ist (LAUBENHEIMER). Die Sporenkeimung ist leichter zu hemmen als das vegetative Wachstum, während die Abtötung der Sporen viel schwieriger ist, als die der vegetativen Keime.

Die Forderung, daß außer der Konzentration der Desinfektionsmittel alle anderen Bedingungen einander gleichen, kann im Hemmungsversuch nur bei zur gleichen Zeit durchgeführten Versuchen eingehalten werden. Schon geringe Änderungen der Art, Zusammensetzung und Reaktion der Nährböden beeinflussen nach REICHEL (1931) den Hemmungswert, der von viel mehr Faktoren abhängig ist als der Abtötungswert.

Wird der Desinfektionswert unter den Forderungen des exakten Versuches ermittelt, so gibt es für ein Mittel gegenüber einer bestimmten Keim-

art auch bei zeitlich und örtlich verschiedenen Untersuchungen nur einen Desinfektionswert, aber viele Hemmungswerte (REICHEL). Es ist deshalb eine gesetzmäßige Beziehung zwischen diesen beiden Werten nicht aufzustellen (FRIEDENTAL 1919).

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. DIE DESINFEKTIONSMITTEL

Die zur Prüfung vorliegenden Präparate wurden von Herrn Ob.Reg. und Vet.Rat Dr. Gilbert, Gießen, in einem Vorzugsmilchbetrieb entnommen und dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut der Justus Liebig-Hochschule zu Gießen übergeben.

1. Stecorit

Stecorit lag in den von der Herstellerfirma abgefüllten und verschlossenen Plastikbeuteln (Inhalt etwa 20 ccm Flüssigkeit) vor, die sich insgesamt wiederum in einem größeren Plastikbeutel befanden und in einem Pappkarton der herstellenden Firma verpackt waren. Ein Abfülldatum war auf der Verpackung nicht angegeben.

Stecorit ist eine leicht gelb-grünliche, klare Flüssigkeit, die sich mit Wasser gut mischt. Der Geruch ist etwas scharf stechend nach Chlor. Die Reaktion der unverdünnten Lösung ist stark alkalisch, der p_H -Wert der 0,2-%igen Verdünnung beträgt 8,0; der 0,5-%igen 8,6, gemessen mit dem Jonometer n. Lautenschläger.

2. Tego 51

Die Probe des Tego 51 lag in einer Menge von 500 ccm vor. Tego 51 ist eine bräunliche, klare Flüssigkeit, die beim Schütteln stark schäumt. Ein spezifischer Geruch konnte nicht festgestellt werden. Die Mischung mit Wasser erfolgt gut in jedem Verhältnis.

Der p_H -Wert der unverdünnten Lösung beträgt 8,5; der 1-%igen Verdünnung 7,4, der 5-%igen 7,6, gemessen mit dem Jonometer n. Lautenschläger.

3. Allgemeines

Die Verdünnungslösungen beider Präparate wurden jeweils frisch hergestellt.

Um Abmeßfehler durch zu kleine Mengen zu vermeiden, wurden die in den Versuchen gebrauchten Konzentrationen bei Stecorit aus einer 1-%igen und bei Tego 51 aus einer 10-%igen Lösung hergestellt. Damit ergaben sich beim Abmessen der Flüssigkeiten mit Pipetten keine Mengen unter 1,0 ccm bei Herstellung von 20 ccm Gesamtfüssigkeit.

II. AUSWAHL DER TESTBAKTERIEN UND IHRE ZUCHTUNG

Als Testbakterien zur Feststellung der keimtötenden und keimhemmenden Kraft eines Desinfektionsmittels werden im allgemeinen das Colibakterium und Staphylokokken als die widerstandsfähigsten Bakterien bevorzugt, um ein ausreichendes Urteil über zu prüfende Präparate zu erhalten.

Es wurden als Testbakterien ausgewählt je ein Stamm von

1. *Escherichia coli* und
2. *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Da beide Arten als Saprophyten in der Milch vorkommen, besteht keine Ursache, von der allgemein üblichen Anwendung dieser Testbakterien abzuweichen.

Die Colikeime kommen durch Beimengung von Kotteilen in die ermolkene Milch und damit auch in die Melkgeräte. Ihre zahlenmäßige Feststellung in der Milch ist ein Gradmesser der sauberen Gewinnung der Milch („Colititer“). Sie sind bei der Sommerdiarrhoe der Säuglinge und auch bei ruhrartigen Durchfällen der Jungtiere beteiligt. Die Qualität der Milch wird durch Geruchs- und Geschmacksabweichungen erheblich beeinträchtigt. Ihre Bedeutung für die Milchhygiene und Milchwirtschaft ist in gleicher Weise bedeutend.

Von den Mikrokokken gilt der *Staphylococcus pyogenes aureus* als eine der widerstandsfähigsten Arten gegenüber Desinfektionsmitteln, weshalb er als Vertreter resistenter vegetativer Keime regelmäßig zur Prüfung eines Desinfiziens herangezogen wird. Er kommt zudem bei der Mikrokokkenmastitis als Krankheitserreger vor.

1. *Escherichia coli*

Der in den Versuchen benutzte Colistamm wurde über die Bromthymolblau-Laktose-Agarplatte aus einer rohen unerhitzten Milchprobe gezüchtet.

Die Abstriche der ersten Platte wurden mehrmals auf die gleiche Platte, überdies auch auf die Methylenblau-Eosin-Agarplatte übertragen. Die so gewonnene Reinkultur wurde zur Unterscheidung von *Aerobacter aerogenes* in der üblichen Weise geprüft.

Morphologie: plumpe, kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden.

Gramfärbung: entfärbt (gramnegativ).

Beweglichkeit: im hängenden Tropfen lebhaft; in Hitchin's halbfestem Agar: starke gleichmäßige Trübung; Glucose, Laktose unter Säurebildung gespalten; Saccharose nicht gespalten.

Indol gebildet; Acethyl-Methyl-Carbinol nicht gebildet; Methylrotprobe positiv.

Ergebnis: Der Stamm gehört zur Art *Escherichia coli*. Die Stammkultur wurde auf Schrägagar gebracht und zu den Versuchen stets in 24stündiger Kultur verwandt.

2. *Staphylococcus pyogenes aureus*

Die in den Versuchen verwendete Reinkultur wurde der Stammsammlung des Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institutes Gießen entnommen.

Morphologie: grampositive, sporenlose Kokken.

Wachstum in Bouillon: Trübung, starker Bodensatz.

Blutagar-Platte: glatte, gewölbte, undurchsichtige Kolonien, keine Hämolyse.

Glucose, Maltose und Saccharose unter Säurebildung gespalten, Mannit (+), Salizin (—).

Indol nicht gebildet.

Der Stamm wurde auf Schrägagar gebracht und zu den Versuchen ebenfalls stets in 24stündiger Kultur verwandt.

Beide Stämme wurden alle acht Tage umgestochen, zwischen den Versuchen im Dunkeln und im Eisschrank aufbewahrt.

III. BESTIMMUNG DES KEIMTÖTENDEN WERTES

Die Feststellung der keimtötenden Wirkung der beiden Präparate wurde im Granatverfahren durchgeführt.

Der Grund zur Wahl gerade dieses Verfahrens liegt u. a. darin, daß dieses Verfahren in besonderem Maße dem vorliegenden Zweck, der Desinfektion der auf den Flächen der Milchgeräte haftenden Keime, entspricht. Die selbst bei rohen Steinen relativ glatten Flächen der Granaten sind denen der Milchgeräte adäquat. Es werden damit Verhältnisse erreicht, wie sie in der Praxis vorliegen. Abgesehen von diesem zufälligen Zusammentreffen sei jedoch betont, daß das Granatverfahren zur exakten Prüfung allgemein anerkannt ist.

1. Das Granatverfahren nach Krönig und Paul

Das Granatverfahren liefert gute und einwandfreie Ergebnisse, es kann als die genaueste Methode zur Wertbestimmung eines chemischen Desinfektionsmittels angesehen werden (KLIMMER 1923).

In der Bereitung der Testgranaten folgte ich den Angaben Klimmer's: „Rohe Triergranaten von möglichst gleicher Größe werden von Gesteinsresten und unregelmäßig gestalteten oder rauh erscheinenden oder rissigen Granaten befreit, mit einer Mischung von 1 Teil roher konzentrierter Salzsäure und 3 Teilen Wasser wiederholt ausgekocht, mit Wasser gespült, bis dies völlig klar bleibt und nacheinander in Alkohol, Äther und wiederum Alkohol und Wasser gründlich abgespült. Sie werden auf einem sauberen Leintuch ausgebreitet, wobei vorher und auch nachher ein Berühren mit den Händen zu vermeiden ist und an einem staubfreien Ort getrocknet. Die Granaten werden in kleine Kölbchen abgefüllt und diese mit einem Becherglas bedeckt.“

Die gründliche Reinigung ist von Einfluß auf die Versuchsergebnisse, so daß die von KRÖNIG und PAUL (1897) angegebene Behandlung einzuhalten ist, um die Desinfektionswirkung u. U. durch anhaftende Bestandteile nicht zu beeinträchtigen (OTSUKI 1900, LAUBENHEIMER 1909).

Die in meinen Versuchen benutzten Granaten wurden durch Aussieben und Verlesen mit der Hand ausgewählt und hatten ein durchschnittliches Gewicht von 98,5 mg. Sie wurden nach der Reinigung in 3 Stunden bei 150° C in trockener Hitze sterilisiert.

2. Wahl der Keimträger im Granatverfahren

In der Wahl der Granaten gingen KRÖNIG und PAUL davon aus, einen Keimträger zu benutzen, der durch eine gründliche Säuberung und Sterilisie-

rung nicht angegriffen wird und auf dem die angetrockneten Keime in dünner Schicht fest haften, zudem dem Desinfektionsmittel leicht zugänglich sind. Die Oberfläche der Granaten wird auch von den Desinfektionsmitteln nicht angegriffen; sie geben keine den Desinfektionsvorgang beeinflussenden Bestandteile ab und nehmen vor allem nichts von dem Desinfiziens, das durch Abspülen leicht entfernt werden kann, in sich auf, so daß Nachwirkungen in der Nachkultur nicht auftreten können.

Die rohe, jedoch nicht stark rissige oder raue Oberfläche ermöglicht die Antrocknung einer annähernd gleichmäßigen Schicht der Testkeime. Gewisse Rauigkeiten werden sich bei rohen, nicht geschliffenen oder gar polierten Steinen nicht vermeiden lassen, sie sind jedoch für die Wirkung der Desinfektion unerheblich.

Von vielen Autoren wurden in Anlehnung an das Granatverfahren andere Keimträger gewählt, die fast alle ohne Bedeutung blieben, weil sie die Granaten nicht zu ersetzen vermochten. Verlockend wäre es immer wieder, Glas- oder in direkter Anlehnung an die Granaten — Glasschrot zu verwenden. Es muß jedoch auf die in dieser Hinsicht gewonnenen Erkenntnisse hingewiesen werden, zu denen schon KRONIG und PAUL, später KLIMMER (1923) u. a. kamen, daß nämlich die Oberfläche des Glases sowohl bei Glasperlen als auch Splittern, Plättchen usw. nicht gleichmäßig von der Flüssigkeit benetzt wird. Selbst wenn man ein chemisch vollkommen indifferentes Glas verwendet, das in keinem Falle irgendwelche Stoffe abgibt, bleibt außer der nicht gleichmäßigen Benetzung der große Nachteil, daß sich die Keime zu leicht vom Glas ablösen.

Eine Anzahl der für die Versuche bezogenen Granaten war durch nach dem Kochen in der Salzsäurelösung hervortretende starke Rauigkeiten nicht zu verwenden.

Bei der Auswahl eines anderen Keimträgers neben den einwandfreien Granaten mußten unbedingt die Eigenschaften der Granaten gewahrt bleiben. Es mußte z. B. auf die in Aussicht genommenen Achate verzichtet werden, weil der Achat eine — wenn auch geringe — Porosität besitzt, so daß Desinfektionslösung aufgenommen und in der Nachkultur wieder abgegeben werden kann, wodurch die Nachkultur beeinflusst wird.

Grundsätzlich muß gesagt werden, daß unter den Keimträgermethoden das Granatverfahren die Methode der Wahl ist, daß bei Anlehnung an das Verfahren jedoch nur Steine verwendet werden können, die den erwähnten Anforderungen voll und ganz entsprechen.

Einen genügend harten und widerstandsfähigen, glatten und nicht porösen Stein, der allen Anforderungen entsprach, konnte ich von der Firma Louis Wild u. Söhne, Idaroberstein, als rohe Saphire erhalten.

Die Saphire unterlagen im Versuch den genau gleichen Behandlungsmethoden wie die Granaten und wurden zusammen mit ihnen bereitet. Sie hatten eine etwas glattere Oberfläche. Der Vergleich mit den Granaten wurde in allen Versuchen zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen durchgeführt. Die allgemeine Angabe „Testobjekte“ bezieht sich auf Granaten und Saphire, wenn sie nicht besonders bezeichnet sind.

In der Durchführung des Granatverfahrens sind die Saphire an Stelle von Granaten ohne Bedenken zu verwenden; ihre Wahl stellt eine Variation des Verfahrens dar, durch welche die Methodik an sich keine Änderung erfährt.

Die verwendeten Saphire waren etwas größer als die Granaten und hatten ein Durchschnittsgewicht von 128 mg. Diese Differenz ist ohne Bedeutung, da es nicht auf die absolute Größe, sondern auf die gleiche Größe der Steine untereinander ankommt.

3. Versuchsanordnung des Abtötungsversuches

In den Versuchen zur Feststellung des Desinfektionswertes wurden die grundsätzlichen Forderungen des exakten Versuches eingehalten: Als Testbakterien wurden die genau identifizierten Reinkulturen verwendet. Die zu prüfenden Mittel wurden in festgelegten Dichten genau abgemessen und die Versuche bei gleicher Temperatur durchgeführt. In der Nachkultur wurden optimale Entwicklungsbedingungen in Bezug auf Nährlösungen und Bruttemperatur eingehalten, ferner wurden die Kontrollversuche unter völlig gleichen Bedingungen wie die Desinfektionsversuche durchgeführt.

a. Bakterienaufschwemmung

Von 24stündigen Schrägagarkulturen wurde der Kulturbelag mit 5 ccm sterilem destillierten Wasser abgeschwemmt. Die Bakteriensuspension wurde auf 20 ccm aufgefüllt, gut durchgeschüttelt und durch ein steriles Faltenfilter gegeben.

Bis zu 100 sterile Testobjekte wurden mit der frisch filtrierten Suspension (20 ccm) in einem sterilen Kölbchen übergossen und gut geschüttelt. Anschließend wurde die überschüssige Flüssigkeit abgegossen und die Testobjekte zum Ablaufen in einen enghalsigen, mit losem Wattepfropf verschlossenen Trichter gegeben, der mit einer sterilen Schale abgedeckt wurde.

b. Antrocknung

Die Antrocknung erfolgte in mit sterilem Fließpapier ausgelegten Petrischalen über ausgeglühtem Chlorkalzium im Exsikkator unter Lichtabschluß im Eisschrank ($+5^{\circ}\text{C}$) in etwa 16 Stunden. Durch das Fließpapier in den Petrischalen wurde die noch überschüssige Flüssigkeit zum Teil aufgesaugt und damit eine Krustenbildung vermieden, die beim Aufliegen auf Glas zu befürchten war. Die Objekte müssen bei der Antrocknung möglichst isoliert liegen, um an den Berührungsstellen wiederum Krustenbildung zu verhindern.

Von den in der Literatur angegebenen Methoden, um fertig beschickte Testobjekte längere Zeit aufzubewahren, wurde in den vorliegenden Versuchen kein Gebrauch gemacht; es wurden nur frisch mit Bakterien beschickte Steine sogleich nach der Antrocknung im Versuch verwandt.

c. Desinfektionsversuch

Die mit Keimen beschickten Testobjekte wurden mit ausgeglühten Pinzetten in die Desinfektionslösungen gegeben, die sich in einer Menge von 20 ccm in sterilen Glasschälchen befanden, und nach den in den Versuchen gewählten Zeiten von $\frac{1}{4}$ bis zu 10 Minuten wieder herausgenommen. Für jede Einwirkungszeit in einer Konzentration wurden 2 Granaten und 2 Saphire herausgenommen, die jedoch einzeln in ein Bouillonröhrchen der Nachkultur gebracht wurden, um getrennt die Ergebnisse ablesen zu können. Jeder Versuch war somit doppelt angelegt. Die Testobjekte für einen Versuch in einer Konzentration wurden zusammen in die Desinfektionslösung eingelegt; dadurch war gewährleistet, daß die Keime wirklich der gleichen Desinfektionsmittelkonzentration ausgesetzt waren.

Während der Einwirkungszeit lagen die Testobjekte in der Lösung auf einem kleinen Sieb, um ihre Bewegung in der Lösung zu ermöglichen und etwaige Luftblasen durch leichtes Schütteln abzulösen. Zuerst wurde das

Sieb, anschließend die Testobjekte in die Lösung eingebracht. Die Objekte lagen damit von Anfang an nicht der Glasfläche, sondern nur dem Draht des Siebes auf, die Desinfektionslösung konnte somit die ganze Fläche der Objekte benetzen.

Die Verdünnungen der Präparate wurden mit kaltem Leitungswasser hergestellt. Das Leitungswasser beeinträchtigt den exakten Versuch — bei dem man vielleicht die Verwendung von dest. Wasser annehmen könnte — in keiner Weise; nach KLIMMER (1923) wird in den Desinfektionsversuchen meist Leitungswasser verwandt.

Die Angabe der Verdünnungen in Prozentzahlen (%) bezieht sich auf Raunteile, wobei die von den Firmen in den Handel gebrachten Lösungen als 100%ig angenommen sind.

Die Versuchstemperatur von 20°C wurde durch Temperaturkontrollen gleichgehalten.

Die nach Ablauf der Einwirkungszeit aus den Desinfektionslösungen genommenen Testobjekte wurden durch Abspülen von anhaftendem Desinfiziens befreit. In der I. Versuchsreihe erfolgte die Abspülung zunächst in einem Schälchen mit 20 ccm steril. aqua. dest., dann in zwei weiteren Schälchen mit je 20 ccm physiol. NaCl-Lösung (p_H 7,2) für 5 und 1 Minute.

Um den möglichen Versuchsfehler zu vermeiden, daß durch die Abspülung verschiedener Testobjekte im gleichen Spülwasser ein Testobjekt, bei dem Abtötung aller Keime in der Desinfektionslösung eingetreten war, durch von einem anderen Objekt abgelöste — nicht abgetötete Keime — nachinfiziert wird, wurden die Testobjekte in der II. Versuchsreihe einzeln einer getrennten Abspülung unterzogen. Die Spülung erfolgte zunächst in einem Fläschchen mit 20 ccm steril. aqua. dest. und dann in einem weiteren Fläschchen mit 20 ccm phys. NaCl-Lösung (p_H 7,2) für 5 Minuten.

Durch das Einlegen der Testobjekte in 20 ccm Spülflüssigkeit war zu erwarten, daß die Desinfektionswirkung sofort unterbrochen wurde. Dies geht aus einem orientierenden Versuch hervor, bei dem 5 Testobjekte jeder Art zunächst trocken und dann mit aqua dest. benetzt gewogen wurden. Die durchschnittliche Gewichtszunahme betrug 10,8 mg, was ohne Berücksichtigung der Wasserwichte 0,0108 ccm entsprechen würde. In 20 ccm Spülflüssigkeit übertragen, würde selbst bei der Konzentration von 10% eines Mittels nur eine Dichte von 0,0054% in der ersten Spülflüssigkeit hervorgerufen werden. Um jedoch auch ein Nachwirken der sehr verdünnten Substanz zu verhindern, blieben die Testobjekte in der ersten Spülflüssigkeit nur ca. $\frac{1}{2}$ Minute, während die zweite Spülung auf 5 Minuten ausgedehnt wurde.

Durch diese Behandlung sind die Testobjekte als praktisch frei von anhaftenden Desinfektionsmittelresten anzusehen, zumal sie durch mehrmaliges Schwenken der Fläschchen allseitig von der Flüssigkeit umspült wurden.

Daß die Keimzahl nur unerheblich durch die Abspülung beeinflusst wird, wurde in Kontrollversuchen nachgewiesen (s. u. Abschnitt Kontrollversuche).

d. Nachkultur

Da ich in den Desinfektionsversuchen die vollständige Abtötung anstrebte, wurde ausschließlich flüssiger Nährboden (Serumbouillon) zur Nachkultur verwandt. Damit wurden den Testbakterien gleichzeitig optimale Entwicklungsbedingungen geboten.

Der flüssige Nährboden ist für die Feststellung des Abtötungswertes besonders geeignet, weil allen der Desinfektionswirkung im Granatverfahren ausgesetzt gewesenen Keimen auch die Möglichkeit zur Entwicklung in der Nachkultur geboten wird.

Die gleichmäßige Beschaffenheit dieser Nährlösungen in den Kulturröhrchen wurde dadurch erreicht, daß für einen Versuch Abfüllungen aus derselben Herstellung verwendet wurden.

Durch die Verwendung von Serumbouillon wird zudem eine Nachwirkung der trotz aller Vorsicht etwa mitübertragenen Spuren der Desinfektionsmittel vermindert und überdies selbst geschädigte, nicht abgetötete Keime zur Entwicklung gebracht (KOCH, BEHRING, GRUBER, KLIMMER u. a.).

Die mit den Testobjekten beschickte Serumbouillon wurde bei 37° C im Brutschrank gehalten und das erste Ergebnis nach 24 Stunden abgelesen.

Um auch das Auswachsen geschwächter Keime zu erkennen, wurde in den ersten Versuchen die Bebrütungszeit der negativen Röhrchen auf 10 Tage ausgedehnt. BEHRING (1894) stellte „in unzähligen Einzelversuchen fest, daß, wenn am zweiten Tag keine Entwicklung eingetreten war, auch später eine solche nicht mehr erfolgte“.

Ich fand dies in meinen Versuchen bestätigt, denn in nur wenigen Fällen trat eine Keimentwicklung noch am zweiten Tage ein, nach dem dritten Tage konnte ich in bis dahin negativ gebliebenen Röhrchen kein Wachstum mehr beobachten.

Die entscheidenden Versuchsergebnisse dürften somit in den Zeitraum des ersten bis dritten Tages fallen, so daß man sich auf eine maßgebliche Beobachtungszeit von 72 Stunden beschränken kann.

Die Identität der Keime bei positiven Resultaten wurde durch Ausstriche auf den Keimen angepaßten festen Nährböden (Escherichia coli = Bromthymolblau-Platte, Staphylococcus pyog. au. = Blutagar-Platte) ermittelt.

4. Feststellung der Eiweißempfindlichkeit

Die in der vorstehend beschriebenen Versuchsanordnung durchgeführten Versuche ermitteln den Desinfektionswert der Präparate in wässriger Lösung. Da jedoch in der praktischen Anwendung die Desinfektionskraft durch Beimengen anderer Stoffe als Wasser beeinflusst werden kann (KLIMMER (1923), wird angestrebt, die Bedingungen der praktischen Nutzenanwendung einzuhalten, soweit es die Durchführung des exakten Versuches gestattet. Dabei werden die die Desinfektionswirkung beeinflussenden Substanzen nach KLIMMER den Desinfektionslösungen gesondert zugesetzt.

Bei Präparaten zur Desinfektion von Milchgeräten ist die Eiweißempfindlichkeit von besonderem Interesse. Bei vielen Mitteln wird die Wirkung durch Eiweißkörper herabgesetzt, die nicht nur die Wirkung dadurch vermindern, daß sie das Mittel ausfällen, sondern auch bei Ausbleiben einer Fällung (KLIMMER).

a. Stecorit

Bei den Hypochloriten ist die Eiweißempfindlichkeit hinreichend bekannt, so daß es beim Stecorit keiner Untersuchung bedarf; es wurde bereits im Schrifttum darauf hingewiesen, daß Mittel mit Gehalt an aktivem Chlor nur nach gründlicher Entfernung der Eiweißreste ihre volle Wirksamkeit entfalten können.

b. Tego 51

Tego 51 hat nach Angaben in der Literatur (SCHMITZ 1952, HERRMANN und PREUSS, GISSKE 1952 u. a.) keinen solchen „Eiweißfehler“ aufzuweisen.

Dies prüfte ich dadurch nach, daß ich einer vollwirksam gefundenen Konzentration (8,0%) sterilisierte Milch im Verhältnis von 0,25% und 0,5% zusetzte. Es trat ein starker Niederschlag auf, der beim Schütteln die Flüssigkeit gleichmäßig trübte.

Da es sich um einen orientierenden Versuch handelte, wurde er nur mit Colibakterien in der angegebenen Konzentration bei Tego 51 durchgeführt.

5. Kontrollversuche

Die Kontrollversuche wurden gleichzeitig in jeder Versuchsreihe durchgeführt.

a. Keimfreiheit

Die Keimfreiheit der unbehandelten Testobjekte wurde durch 10tägiges Bebrüten der mit ihnen beschickten Serumbouillon, die der verwendeten Ingredienzien (Flüssigkeit zum Spülen der Objekte, Nährlösungen, Nährböden usw.) durch Ausstriche und 10tägiges Bebrüten bei 37° C überprüft.

Diese Kontrollen hatten in allen durchgeführten Versuchen gleiche negative Ergebnisse.

b. Feststellung der Entwicklungsfähigkeit der Testbakterien nach der Antrocknung und Bestimmung der Keimzahl

Zur Feststellung der Entwicklungsfähigkeit der an die Testobjekte angetrockneten Keime wurden zu Anfang und am Ende jedes Versuches je fünf Exemplare in ein Röhrchen mit Serumbouillon verbracht und 24 Stunden bebrütet. Damit wurde auch bei den zuletzt verwendeten Testobjekten die unverminderte Entwicklungsfähigkeit der Keime festgestellt.

Die Testobjekte waren durchschnittlich gleich groß und wurden mit der gleichen Bakterienaufschwemmung benetzt; auch die Antrocknung wurde in stets gleicher Weise und unter denselben Bedingungen durchgeführt, so daß angenommen werden kann, daß an die Objekte eine durchschnittlich gleiche Zahl von Keimen angetrocknet war.

Aus der Schnelligkeit und Intensität des Wachstums in den Kontrollröhrchen konnte ermessen werden, ob die Beschickung mit Keimen ausreichend war.

Da eine direkte Zählung der an einem Testobjekt angetrockneten Keime nicht möglich ist, wurde die Zahl der Keime, die nach 24stündiger Bebrütung in den Kontrollröhrchen enthalten sind, durch Ausstriche von Verdünnungen der Kultur und Auszählung der aufgegangenen Kolonien ermittelt.

Tabelle 1
Wachstum und Keimzahl der Kontrolle b

Kontrolle	mit Bakterien beschickte	Wachstum	
		Coli	Staphyl.
I/b 1	unbehandelte Granaten	+++	+++
b 2	unbehandelte Saphire	+++	+++
		Keimzahl in 0,1 ccm Verdünnung 1:100 000 1:100 000	
		Coli	Staphyl.
I/b 3	unbehandelte Granaten	223	335
b 4	unbehandelte Saphire	586	384

+++ = starkes Wachstum

Die Tabelle zeigt, daß durch die Antrocknung die Entwicklungsfähigkeit der Keime nicht beeinträchtigt wird (I/b 1 und I/b 2), die Kontrolle hatte in allen Versuchen ein gleiches positives Ergebnis.

Aus den als Durchschnitt ermittelten Keimzahlen (I/b 3 und I/b 4) ist zwar ein Rückschluß auf die wirkliche Zahl der an ein Testobjekt angetrockneten Keime nicht möglich, es kann aber der Schluß gezogen werden, daß eine genügende Zahl keimfähiger Bakterien vorgelegen hat.

c. Bestimmung der Keimzahl nach Abspülung der Testobjekte

Um dem Einwand zu begegnen, daß durch den Aufenthalt der Testobjekte in den Desinfektionslösungen und durch die nachfolgende Abspülung die anhaftenden Keime abgeschwemmt werden, wurden je 5 Objekte so lange in phys. NaCl-Lösung eingelegt (und wie im Versuch bewegt), wie der ganze Versuch dauerte (längste Einwirkungszeit in den Desinfektionslösungen) und anschließend in gleicher Weise abgespült. Damit wurden die gleichen Verhältnisse wie im eigentlichen Versuch geschaffen, nur ohne Desinfizienz. Die Nachkultur erfolgte wie unter b).

Tabelle 2
Wachstum und Keimzahl der Kontrolle c

Kontrolle	mit Bakterien beschickte und in phys. NaCl-Lösung	Wachstum	
		Coli	Staphyl.
II/c 1	behandelte Granaten	+++	+++
c 2	behandelte Saphire	+++	+++
		Keimzahl in 0,1 ccm Verdünnung 1:100 000 1:100 000	
		Coli	Staphyl.
II/c 3	behandelte Granaten	159	271
c 4	behandelte Saphire	334	337

+++ = starkes Wachstum

Mit dieser Kontrolle wurde gleichzeitig nachgewiesen, daß die Flüssigkeit zum Abspülen die Keime nicht schädigt.

Die Keime haften trotz Aufenthalt in der Flüssigkeit und der Abspülung fest an den Granaten und Saphiren (II/c 1 und II/c 2), so daß das Ausbleiben von Wachstum im Versuch nicht auf ein Abschwemmen, sondern auf die Wirkung des Desinfiziens zu beziehen ist.

Der Vergleich der Keimzahlen zwischen I/b 3—4 und II/c 3—4 zeigt, daß durch das Abspülen nur eine geringe Verminderung der Keime stattfindet.

d. Resistenz der Testbakterien

Die Resistenz der Bakterien ist Schwankungen unterworfen. Sie hängt u. a. von dem Bakterienstamm, von den Züchtungsnährböden und vielen anderen Versuchsbedingungen ab. Für den Vergleich mehrerer Versuchsreihen muß deshalb die jeweilige Widerstandsfähigkeit der Keime in einem Parallelversuch festgestellt werden, auf den ESMARCH (1894) hinwies, als er in seinen Versuchen erhebliche Unterschiede in der Resistenz fand.

Der Vergleich wird mit einem bekannten Desinfiziens (KLIMMER 1923) unter völlig gleichen Bedingungen wie der Desinfektionsversuch durchgeführt.

Dem möglichen Einwand, daß die Kulturbakterien weniger resistent als die des natürlichen Infektionsgutes sind, wird dadurch begegnet, daß frisch isolierte Stämme verwendet wurden.

In meinen Versuchen habe ich als Vergleichsdesinfiziens Phenol (rein) in wässriger Lösung in den angegebenen Konzentrationen verwandt (s. S. 31).

6. Auswertung der Abtötungsversuche

In den Versuchsröhrchen der Nachkultur war das Wachstum der nicht abgetöteten Keime durch mehr oder weniger starken Bodensatz und dichten Bakterienbelag auf den Testobjekten zu erkennen.

Graduelle Unterschiede des Wachstums traten an der Grenze der abtötenden Dichte der Mittel auf; jedes Wachstum muß jedoch als Versagen der Desinfektionswirkung gerechnet werden.

Bei gleicher Einwirkungszeit in einem Versuch traten mitunter widersprechende Ergebnisse auf; hierbei war das Objekt mit Keimwachstum für die endgültige Beurteilung maßgebend.

In einigen Fällen war in kürzerer Zeit Abtötung erreicht, während bei längerer Einwirkung innerhalb desselben Versuches die Nachkultur Wachstum zeigte. Diese wenigen Schwankungen sind von vielen Untersuchern beobachtet worden und fallen in den Bereich des Biologischen. In Unkenntnis der direkten Vorgänge bei der Abtötung der lebenden Bakterien durch die Desinfektionsmittel ist hierfür eine eigentliche Begründung nicht möglich. In Betracht kommt namentlich, daß die Resistenz der Testbakterien auch innerhalb eines Bakterienstammes bei den einzelnen Individuen verschieden sein kann, und daß die widerstandsfähigsten Keime die Einwirkung der Präparate überlebt haben.

Bei allgemeiner Gegenüberstellung der Ergebnisse mit *Bact. coli* und den Staphylokokken, sind bei letzteren einheitlichere Resultate zu erkennen; es treten nur wenig einander widersprechende Fälle im gleichen Versuch auf. Dies ist auf die im allgemeinen größere Widerstandsfähigkeit der Staphylokokken gegen Desinfektionsmittel zurückzuführen. Bei den Colibakterien scheinen dagegen aus unbekannten Gründen leichter abzutötende neben besonders resistenten Individuen aufzutreten.

Für die Beurteilung eines Desinfektionsmittels liefert das Granatverfahren in dieser Hinsicht besonders wertvolle Ergebnisse, da allen der Desinfektionswirkung ausgesetzt gewesenen Keimen auch die Möglichkeit der Entwicklung in der Nachkultur geboten wird.

Im Suspensionsverfahren wird dagegen nur ein geringer Bruchteil der ursprünglich eingebrachten Testbakterien auf Entwicklungsfähigkeit geprüft.

Durch scheinbar widersprechende Ergebnisse im Granatverfahren wird darauf hingewiesen, daß die Wirkung der Desinfektionsmittel in gewissen Zeiten und Konzentrationen unsicher ist.

Eine Beeinflussung der Ergebnisse seitens der Oberfläche der Testobjekte ist zwar nicht ganz auszuschließen, wie der Vergleich der Ergebnisse der Granaten mit den etwas glatteren Saphiren zeigt. Die voneinander abweichende Rauigkeit der Oberfläche ist jedoch nicht erheblich, so daß sich die anhaftende Bakterien-schicht dadurch nur in minimaler Weise ändert und die Desinfektionswirkung nicht erheblich beeinträchtigt.

Die Ergebnisse der Versuche werden somit durch die Desinfektionsmittel selbst bestimmt. Die Grenze der Abtötung kann, da die Desinfektion alle Keime erfassen soll, nur bei den Dichten und Zeiten einer Einwirkung bestimmt werden, in denen die Nachkultur aller Testobjekte kein Wachstum mehr zeigt, also vollständige Abtötung vorliegt.

In den Abtötungsversuchen habe ich auf eine längere Einwirkungszeit als 10 Minuten verzichtet, weil in der Praxis der Milchgerätedesinfektion eine längere Zeit nicht eingehalten werden kann.

Ein allen Anforderungen entsprechendes Mittel muß jedoch einen Desinfektionswert besitzen, der mindestens zwischen 1 und 5 Minuten liegt. In den Versuchen wurde deshalb nicht die Zeit verlängert, sondern die Konzentration erhöht, um die Abtötung der Testkeime zu erreichen.

Die Ergebnisse der in der Versuchsanordnung angegebenen Versuchsreihe I weichen von denen der Versuchsreihe II nicht wesentlich ab. Da die Versuchsreihe II jedoch einen möglichen Versuchsfehler ausschließt, lege ich diese Ergebnisse allein der Ermittlung des Desinfektionswertes zu Grunde.

7. Ergebnisse der Abtötungsversuche

a. Stecorit

Im Granatverfahren ergab Stecorit in Konzentrationen von 0,05% bis 1,0% und Einwirkungszeiten von $\frac{1}{4}$ bis 10 Minuten bei 20° C die in Tabelle 3 aus den ermittelten Einzelergebnissen zusammengefaßten Abtötungszeiten in Minuten.

Tabelle 3

Desinfektionsmittel Stecorit	Testbakterien			
	Escher. coli		Staphyl. pyog. au.	
	Testobjekte			
Konzentrationen 0/0	Granatén	Saphire	Granaten	Saphire
0,05	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—
0,2	10	5	—	10
0,3	10	1	—	10
0,4	5	1	10	10
0,5	1	1/4	5	3
0,6	1/2	1/4	3	3
0,8	1/4	1/4	3	1
1,0	1/4	1/4	1	1/2

Es bedeuten:

(—) = keine Abtötung in 10 Minuten,

— = von der Herstellerfirma angegebene Gebrauchskonzentration,

— = im Granatverfahren gefundene wirksame Konzentration.

1. Ergebnisse mit *Escherichia coli*

In der Tabelle 3 ist die von der Herstellerfirma angegebene Gebrauchskonzentration von 0,2% gekennzeichnet. Die bei dieser Konzentration erreichten Abtötungszeiten liegen im Granatverfahren zwischen 10 und 5 Minuten. In 0,3- bis 0,4%iger Konzentration liegt der Abtötungswert zwischen 5 Minuten und 1 Minute. Bei 0,5% tritt volle Wirksamkeit ein; bei dieser Dichte werden sowohl die an Granaten als auch an Saphire angetrockneten Coli-keime in kurzer Zeit (1 und 1/4 Minute) abgetötet.

2. Ergebnisse mit *Staphylococcus pyog. aureus*

Die Staphylokokken weisen eine größere Widerstandsfähigkeit auf. Während in den niederen Konzentrationen keine Abtötung — bzw. bei den Saphiren bei 0,2—0,4% in 10 Minuten eintrat, bewirkte die 0,5%ige Dichte Abtötung in 3 bis 5 Minuten. Diese Zeit ist bei sorgfältiger Desinfektion als ausreichend anzusehen, so daß auch die widerstandsfähigsten Bakterien durch Stecorit abgetötet werden.

Wenn in einem exakten Desinfektionsversuch auch die Nachwirkung des Desinfiziens unbedingt verhindert werden muß, um die Desinfektionswirkung nach der Einwirkungszeit sicher zu unterbrechen, so wird eine solche Nachwirkung in praxi zweifellos eintreten, wenn auf eine Nachspülung mit Wasser verzichtet werden kann. Beim Stecorit ist dies laut Angabe des Herstellers möglich; dies erscheint berechtigt, weil die geringen Spuren von Hypochlorit durch die eingefüllte Milch sofort zerstört werden.

Eine Aktivchlorgehaltbestimmung wurde am Ende der Versuchsreihe vorgenommen, sie ergab 6,3%. Der gegenüber den Ergebnissen der Bundesversuchsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel (10,2 und 9,2%) geringere Wert ist wahrscheinlich durch die Lagerung bedingt und trat trotz Aufbewahrung der Plastikbeutel im verschlossenen Karton ein.

Die Desinfektionswirkung von Stecorit ist auf Grund der im Granatverfahren ermittelten Ergebnisse in der 2^{1/2}fachen Gebrauchskonzentration, d. h. 0,5% als voll wirksam für die Praxis der Milchgerätedesinfektion zu bezeichnen.

b. Tego 51

Im Granatverfahren ergab Tego 51 in Konzentrationen von 0,25% bis 10,0% und Einwirkungszeiten von 1/2 bis 10 Minuten bei 20° C die in Tabelle 4 aus den ermittelten Einzelergebnissen zusammengefaßten Abtötungszeiten in Minuten.

Tabelle 4

Desinfektionsmittel Tego 51	Testbakterien			
	Escher. coli		Staphyl. pyog. au.	
Konzentrationen ‰	Granaten	Saphire	Granaten	Saphire
0,25	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—
1,0	—	—	—	—
2,0	—	10	—	—
3,0	10	3	—	—
4,0	10	2	—	10
5,0	5	2	10	5
6,0	2	1/2	10	5
8,0	2	1/2	10	5
(8,0 + 0,25‰ Milch)	3	1	/	/
(8,0 + 0,5 ‰ Milch)	3	2	/	/
10,0	1	1/2	5	3

Es bedeuten:

(—) = keine Abtötung in 10 Minuten,

..... = im Granatverfahren gefundene wirksame Konzentration.

===== = von der Herstellerfirma angegebene Gebrauchskonzentration,

1. Ergebnisse mit Escherichia coli

In der angegebenen Gebrauchskonzentration von 1% wurde mit Tego 51 im Granatverfahren bei den Colibakterien keine Abtötung erreicht. In 2- bis 4%iger Konzentration tritt bei den Granaten kaum eine keimtötende Wirkung auf (3% und 4% in 10 Minuten), an den glatteren Flächen der Sa-

phire bewirkt Tego 51 eine bessere Desinfektion (bei 3% in 3 Minuten Abtötung, 4% in 2 Minuten). Von einer allgemein ausreichenden Desinfektionskraft kann jedoch erst in 5%iger Konzentration gesprochen werden, bei der die Abtötungszeit zwischen 2 und 5 Minuten liegt.

Gegenüber der Desinfektionskraft in wässriger Lösung ist nach Zusätzen von 0,25% und 0,5% Milch zu der im Versuch geprüften Konzentration (8%) kaum Verminderung der Desinfektionswirkung festzustellen (Abtötung der Colibakterien in 1 bis 3 Minuten), es liegt somit keine Eiweißempfindlichkeit vor.

2. Ergebnisse mit *Staphylococcus pyog. aureus*

Bis zur 5%igen Konzentration konnte bei den Granaten keine Abtötung erreicht werden, in 5- bis 8%iger Lösung trat sie in 10 Minuten ein und erst bei 10% in 5 Minuten. Die Desinfektionswirkung bei den Saphiren trat bei 4% in 10 Minuten, 5- bis 8% in 5 und 10% in 3 Minuten ein.

Die Staphylokokken zeigen Tego 51 gegenüber eine große Widerstandsfähigkeit. In der reinen Desinfektionswirkung vermag Tego 51 widerstandsfähige Bakterien erst in 5- bis 10%iger Konzentration abzutöten.

Selbstverständlich gibt das exakte Desinfektionsverfahren nur den wirklichen bakteriziden Effekt an, während z. B. das in der Praxis bei mechanischer Ablösung der bakteriellen Verschmutzungen wirksam werdende Schmutztragevermögen, durch welches die Keime weggeschwemmt werden, mit in Betracht gezogen werden muß. Diese Wirkung ist jedoch nicht der bakteriziden Wirkung gleichzusetzen, denn die Wirkung der Desinfektion beruht allein auf der Desinfektionskraft des Desinfiziens.

c. Phenol

Die Parallelversuche zur Ermittlung der Resistenz der Testbakterien wurden mit Phenol in 0,5- bis 5,0%iger Konzentration durchgeführt. Die Abtötungszeiten gibt Tabelle 5 an.

Tabelle 5

Desinfektionsmittel Phenol	Testbakterien			
	Escher. coli		Staphyl. pyog. au.	
Konzentration o/o	Testobjekte			
	Granaten	Saphire	Granaten	Saphire
0,5	—	—	—	—
1,0	10	5	—	—
2,0	1	1/2	2	1
3,0	1/2	1/2	1	1/2
5,0	1/2	1/2	1/2	1/2

(—) = keine Abtötung in 10 Minuten.

Die ausreichende Widerstandsfähigkeit der Testbakterien ist aus den Ergebnissen mit Phenol zu erkennen. Der verwendete Coli-Stamm erlag 1%igem Phenol in 5 bis 10 Minuten, der Staphylokokken-Stamm 2%igem Phenol in 1 bis 2 Minuten.

Die Kontrollversuche mit Phenol haben ergeben, daß die Widerstandsfähigkeit der Keime zu verschiedenen Zeiten der Untersuchungen gleichbleibend war, somit ist der Vergleich der über einen längeren Zeitraum ausgedehnten Versuche gerechtfertigt. Ein direkter Vergleich der Präparate mit Phenol kann nicht die Aufgabe der Kontrollversuche sein, denn damit würde außer acht gelassen, daß jedes Desinfektionsmittel auf Grund seiner wirksamen Substanz eine unterschiedliche Wirkungsweise besitzt.

8. Suspensionsversuche

In einer dritten Versuchsreihe wurde die Desinfektionswirkung in orientierenden Suspensionsversuchen festgestellt.

a. Versuchsanordnung

Als Testbakterien dienten die gleichen Bakterienstämme. Die Suspensionen wurden durch Abschwemmen 24ständiger Kulturen mit 5 ccm ster. aq. dest. gewonnen. Die Aufschwemmungen (5 ccm) wurden unverdünnt durch sterile Faltenfilter filtriert.

Um zu der gewünschten Dichte der Desinfektionsmittel zu gelangen, wurde von einer jeweils 10fach stärkeren Konzentration 1 ccm in ein Röhrchen mit 8 ccm steril. aqua. dest. gegeben und diese mit 1 ccm der filtrierten Suspension der Testkeime versetzt. Die Ausgangslösung der Desinfektionsmittel war somit 1 : 10 verdünnt.

Nach den gewählten Einwirkungszeiten von $\frac{1}{2}$ bis 10 Minuten wurde ohne Neutralisation der Mittel jeweils 1 Öse aus dem Bakt.-Desinfiziens-Gemisch auf einen den Keimen angepaßten festen Nährboden übertragen und dieser 48 Stunden bei 37° C bebrütet.

Die Suspensionsversuche wurden in 0,2- und 0,02%iger Konzentration bei Stecorit und in 1,0- und 0,1%iger Lösung bei Tego 51 als orientierende Versuche bei einer Temperatur von 20° C durchgeführt.

b. Auswertung

1. Stecorit

In der 0,02%igen Lösung konnte bis 10 Minuten keine Abtötung erreicht werden, während in 0,2%iger Dichte sowohl Colikeime als auch Staphylokokken nach einer Einwirkungszeit von $\frac{1}{2}$ Minute nicht mehr wuchsen.

2. Tego 51

In 0,1%iger Lösung wurde keine Abtötung erreicht; in 1%iger Lösung trat bei den Colikeimen nach einer Einwirkungszeit von 1 Minute, bei den Staphylokokken nach 2 Minuten kein Wachstum mehr ein.

3. Allgemeines :

Da aus den Versuchsröhrchen nur eine sehr geringe Menge (1 Öse) auf die festen Nährböden der Nachkultur übertragen wurde, betrifft die Kontrolle nur einen geringen Bruchteil der ursprünglich eingebrachten Bakterien. Es bleibt somit offen, ob wirklich Abtötung aller Keime eingetreten ist. Zudem wurde die unverdünnte Konzentration übertragen. (Über die Frage der Entgiftung s. Schrifttum S. 14.)

Obwohl ich eine Nachkultur in Bouillon nicht vorgenommen habe, bestehen die aufgeführten Bedenken gegen das Suspensionsverfahren auch bei Verwendung flüssiger Nährböden. Um dies klar zu gestalten, gebe ich in folgender Übersicht die in der Nährbouillon auftretenden Konzentrationen eines Desinfektionsmittels unter verschiedenen Bedingungen.

Übersicht:

In die Nachkultur übertragenes Gemisch in ccm	Konzentration des Desinfizi- ziens	Menge des Nährbodens d. Nachkultur	Auftretende Konzentration im Nährboden
1,0 ccm	1,0 ‰	10 ccm	0,09 ‰
5,0 ccm	1,0 ‰	10 ccm	0,33 ‰
10,0 ccm	1,0 ‰	10 ccm	0,5 ‰
1,0 ccm	0,2 ‰	10 ccm	0,018 ‰
5,0 ccm	0,2 ‰	10 ccm	0,066 ‰
10,0 ccm	0,2 ‰	10 ccm	0,1 ‰

Eine kleinere Menge als 1 ccm aus dem Bakt.-Desinfiziens-Gemisch sollte nicht auf lebensfähige Keime untersucht werden (s. auch S. 15), wie auch Nährlösungen in einer geringeren Menge als 10 ccm wohl kaum in Betracht kommen. Die Übersicht läßt erkennen, daß ohne Neutralisation eine Nachwirkung des Desinfiziens auf die Keime nicht auszuschließen ist, weil keine sichere Unterbrechung der Wirkung stattfindet.

Wenn im Suspensionsverfahren auch die Bakteriensuspensionen entsprechend stark und die in die Nachkultur zu überimpfenden Mengen aus dem Gemisch verhältnismäßig groß gewählt werden könnten, so können ohne Neutralisation des Desinfektionsmittels nach dem im Schrifttum gesagten, die ermittelten Werte nicht als die wirklichen Desinfektionswerte eines exakten Versuches angesehen werden.

IV. BESTIMMUNG DES KEIMHEMMENDEN WERTES

Zur Feststellung des keimhemmenden Wertes werden die flüssigen Nährböden mit fallenden Mengen des zu prüfenden Mittels beschickt, mit einer annähernd gleichen Zahl von Keimen besät und bei einer den praktischen Verhältnissen angepaßten Temperatur bebrütet. Die Konzentration des Mittels, die gerade noch die Entwicklung hemmt, stellt den gesuchten Wert dar (KLIMMER 1923).

Der entwicklungshemmende Einfluß wirkt dauernd während der Zeit der Beobachtung unter Bedingungen, die an sich eine Entwicklung gestatten (JANKE 1946).

Die Dauer der Beobachtung wird meist auf 48 bis 72 Stunden ausgedehnt, von einigen Autoren auf acht Tage. Gegen eine zu lange Zeit kann der Einwand erhoben werden, daß die Dichte des Mittels abnimmt bzw. die Resistenz der Keime fällt. Eine Versuchsdauer von 72 Stunden scheint beiden Bedenken Rechnung zu tragen.

In den vorliegenden Versuchen habe ich mich auf die Feststellung der absoluten Hemmung durch Beobachtung sichtbar eintretenden oder ausbleibenden Keimwachstums beschränkt.

1. Versuchsanordnung der Hemmungsversuche

In den Hemmungsversuchen wurden nach entsprechenden Vorversuchen alle Bedingungen außer der Konzentration der Präparate gleich gehalten. Dies wurde erreicht durch Verwendung von Reinkulturen der Testbakterien, gleichmäßige Temperatur und gleiche Nährlösungen, vor allem durch zeitlich gleicher Durchführung der Versuche.

a. Konzentration der Desinfektionsmittel

In einer Reihe steriler Reagenzgläser wurde mit aqua dest. steril. eine Verdünnungsreihe der beiden zu prüfenden Mittel hergestellt. Die gewählten Konzentrationen sind in den Versuchen selbst angegeben.

Von diesen Verdünnungen wurden mittels steriler Pipetten je 1,0 ccm in Röhrchen mit 9,0 ccm Nährlösung gegeben, in denen das Desinfektionsmittel somit in 10facher Verdünnung vorlag.

b. Bakterienaufschwemmung

Von den gleichen Stammkulturen der Abtötungsversuche wurden in gleicher Weise Bakteriensuspensionen in einer Menge von 10 ccm hergestellt und jeweils ein Tropfen den mit Desinfektionsmitteln beschickten Nährlösungen zugesetzt. Die Pipette wurde in einem Versuch für die betreffende Bakterienart nicht gewechselt und beim Abtropfen im gleichen Neigungswinkel gehalten, so daß eine Beimpfung mit praktisch gleicher Keimzahl angenommen werden konnte.

c. Hemmungsversuch

Die Hemmungsversuche wurden durch Anlegen zweier gleicher Versuchsreihen doppelt angelegt und mit einer Temperatur von 20° C den praktischen Verhältnissen der Milchgerätedesinfektion angepaßt. Vollkommen gleichbleibende Temperatur wurde durch Aufstellung der Versuchsreihen in einem dunklen, isolierten Raum mit absolut konstanter Temperatur gewahrt.

In den Röhrchen, in denen innerhalb 72 Stunden keine sichtbare Keimentwicklung eintrat, lag Entwicklungshemmung vor. Von diesen Röhrchen wurden 0,1 ccm auf feste Nährböden ausgestrichen und nach 24 Stunden das Wachstum kontrolliert. Wachstum auf dem Nährboden bedeutet Hemmung, kein Wachstum Abtötung.

d. Kontrollen

Die Anfangskeimzahl der beimpften Röhrchen wurde sofort nach Zusatz der Suspension in ein Kontrollröhrchen (9 ccm Bouillon + 1 ccm ster. physiol. NaCl-Lösung) durch Ausstrich von 0,1 ccm auf einen festen Nährboden und Auszählen der nach 24 Stunden aufgegangenen Kolonien ermittelt.

Tabelle 6

Anfangskeimzahlen im Hemmungsversuch

Desinfektionsmittel	Testbakterien	Anfangskeimzahl Verdünnung 1 1000
Stecorit	Escher. coli	783
	Staphyl. pyo. au.	1884
Tego 51	Escher. coli	634
	Staphyl. pyo. au.	1710

In weiteren Versuchscontrollen wurde die Keimfreiheit der Nährböden, des dest. Wassers und der physiol. NaCl-Lösung wie in den Abtötungsversuchen überprüft. Die Controllen hatten in allen Versuchen negative Ergebnisse.

Die zuerst angegebene Kontrolle diente während des Versuches als Vergleichsröhrchen mit ungehemmtem Keimwachstum.

2. Ergebnisse der Hemmungsversuche

a. Stecorit

In den zuerst durchgeführten Hemmungsversuchen mit gewöhnlicher Bouillon konnte der Hemmungswert nicht ermittelt werden, es trat bis 0,3% ungehindertes Wachstum ein. Die Erklärung für das Ausbleiben jeglicher Hemmung muß in der Eiweißempfindlichkeit des Präparates gesucht werden.

Es wurde deshalb eine Bouillon gewählt, die auf Grund ihrer Zusammensetzung: Liebig's Fleischextrakt 1%, NaCl 0,3%, Na.Phosphat 0,2%, $pH = 7,6$ und den folgenden Eiweißreaktionen: Kochprobe negativ, Hellersche Ringprobe schwach positiv, Sulfosalizylsäure Probe schwach positiv als eiweißarm bezeichnet werden kann.

In einem Vorversuch wurde geprüft, ob in der Nährlösung obiger Zusammensetzung ungestörtes Keimwachstum eintrat. Bei 20°C zeigten sowohl Colikeime, als auch Staphylokokken starkes Keimwachstum. Durch die Verwendung der eiweißarmen Bouillon konnte die Eiweißempfindlichkeit des Stecorit wenigstens zum Teil ausgeschaltet werden.

Je 9 ccm obiger Bouillon wurden mit je 1 ccm folgender Stecoritlösungen (%) beschickt: 5,0/ 3,0/ 2,0/ 1,0/ 0,8/ 0,6/ 0,4/ 0,2/ 0,1—, so daß in den Nährlösungen folgende Konzentrationen vorlagen: 0,5/ 0,3/ 0,2/ 0,1/ 0,08/ 0,06/ 0,04/ 0,02/ 0,01%.

Hemmungswert des Stercorit:

In 0,07- und 0,08%iger Konzentration wurden bei 20°C Escherichia coli und die Staphylokokken bis 24 Stunden, in 0,09- und 0,1%iger Dichte beide Testbakterien bis 72 Stunden vollständig gehemmt.

Diese Ergebnisse dürften nur zum Teil den wirklichen Hemmungswert darstellen, da die Beeinflussung seitens des Nährbodens nicht ganz ausgeschaltet werden kann.

b. Tego 51

In den Hemmungsversuchen mit Tego 51 wurde gewöhnliche Bouillon verwendet, da die Anwesenheit von Eiweiß die Wirkung nicht aufhebt.

9 ccm Bouillon wurden mit je 1 ccm folgender Tego-51-Lösungen beschickt: 10,0/ 6,0/ 4,0/ 2,0/ 1,0/ 0,8/ 0,6/ 0,4/ 0,2/ 0,1%, so daß folgende Konzentrationen in den Nährlösungen vorlagen: 1,0/ 0,8/ 0,6/ 0,4/ 0,2/ 0,1/ 0,08/ 0,06/ 0,04/ 0,02/ 0,01%.

Durch den Zusatz der Tego-51-Lösung trat von 1,0- bis 0,2% schwächer werdende Trübung der Bouillon ein, die sich nach geringem Umschütteln auf den ganzen Nährboden erstreckte; bei 0,1 und 0,08% trat nur noch eine geringe Trübung auf. Die Trübung blieb während der Versuchsdauer bestehen und führte bei 0,4- und höher %igen Konzentrationen zur Bildung eines Bodensatzes, der wie ein dichter Schleier die Kuppe des Reagenzglases überzog und durch Schütteln nicht zu beseitigen war.

Diese Reaktion mit dem Nährboden war nicht zu vermeiden, die Versuche konnten jedoch durchgeführt werden, da in den Konzentrationen mit starker Trübung kein Keimwachstum mehr eintrat, sondern Abtötung.

Hemmungswert des Tego 51:

Die absolute Hemmung lag bei 20° C bei *Escherichia coli* in 0,04%iger Dichte bis 48 Stunden, bei den Staphylokokken bis 24 Stunden vor; in 0,06%iger Konzentration wurden beide Testbakterien bis 72 Stunden gehemmt.

D. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die **Desinfektionswerte** für Stecorit und Tego 51 wurden im „exakten Desinfektionsversuch“ im Granatverfahren mit *Escherichia coli* und *Staphylococcus pyogenes aureus* als Testbakterien bei einer Temperatur von 20° C bestimmt.

a. Stecorit

In der bisher angegebenen Gebrauchskonzentration von 0,2% wird eine Entkeimung erst nach einer Einwirkungszeit von 5 bis 10 Minuten erreicht. In der 0,5%igen Konzentration (50 ccm auf 10 Ltr. Wasser) ist die Desinfektionswirkung bei einer Einwirkungszeit von 1/4 bis 1 Minute (*Escher. coli*), bei den widerstandsfähigeren Keimen (*Staphyl. pyog. au.*) von 3 bis 5 Minuten als gut zu bezeichnen.

b. Tego 51

In der angegebenen Gebrauchskonzentration von 1% wird in Einwirkungszeiten bis 10 Minuten keine Entkeimung erzielt. In der 5%igen Konzentration (500 ccm auf 10 Ltr. Wasser) ist bei einer Einwirkungszeit von 2 bis 5 Minuten (*Escher. coli*), bei den widerstandsfähigeren Keimen (*Staphyl. pyog. au.*) in 5 bis 10 Minuten eine genügende Desinfektionswirkung zu erreichen.

Der Desinfektionswert beträgt somit nach den im Granatverfahren ermittelten Ergebnissen bei 20° C für: **Stecorit**: 0,5% und für **Tego 51**: 5,0%.

Die Befolgung der bisherigen Anwendungsvorschriften wird bei beiden Präparaten nicht zu der erwarteten Abtötung der Bakterien bei der Desinfektion von Milchgeräten führen; vor allem dann nicht, wenn ein „Coli-titer“ der Milch in einem Betrieb festgestellt worden ist.

Konzentration und Einwirkungszeit sind entscheidend für die Anwendung eines Desinfektionsmittels in der Praxis. Werden zu niedrige Konzentrationen angewandt, werden die Bakterien nicht abgetötet, eine zu kurze Einwirkungszeit wird ebenfalls keine Entkeimung herbeiführen.

Eine gewisse Zeitspanne muß bei jedem Desinfektionsvorgang eingehalten werden. Dieser Arbeitsaufwand ist in der Milchwirtschaft in Hinsicht auf hygienisch einwandfreie Milchgeräte durch Desinfektion gerechtfertigt.

2. Die durchgeführten **Suspensionsversuche** bestätigen die Angaben der Hersteller beider Präparate, sie weichen jedoch gegenüber den Resultaten des Granatverfahrens sowohl beim Stecorit als auch beim Tego 51 ab.

Es hat sich im Granatverfahren sehr deutlich gezeigt, daß die Wirkung *in vitro* nicht der Wirkung gleichzusetzen ist, die ein Desinfektionsmittel ausüben muß, um die auf der Unterlage haftenden Keime zu erreichen und sicher abzutöten.

Auf Mängel des Suspensionsverfahrens wurde ausführlich eingegangen.

3. Der **Hemmungswert** liegt bei 20° C für:

Stecorit bei 0,08—0,09%, für **Tego 51** bei 0,04—0,06%.

Die keimhemmende Wirkung hat nur eine untergeordnete Bedeutung. Die vordringlichste Aufgabe eines Desinfektionsmittels ist es, die Geräte keimfrei zu machen und damit Verunreinigungen der Milch seitens der Gerätschaften zu vermeiden. Die bakteriostatische Wirkung hemmt die Keime nur augenblicklich; wird ihnen erneute Entwicklungsmöglichkeit geboten, tritt sofort wieder starkes Auswachsen der Keime ein.

E. SCHLUSSFOLGERUNG

Auf Grund der Ergebnisse der Desinfektionsversuche im Granatverfahren ist es empfehlenswert, die Desinfektionsmittel Stecorit und Tego 51 für den genannten Zweck in höheren Konzentrationen oder mit längeren Einwirkungszeiten zu verwenden.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBERTS (1950): Über die Bakterien tötende und Bakterien hemmende Wirkung von Surrol und sein Einfluß auf die keimschädigende Kraft der Salzsäure. Inaug. Diss. Gießen.
2. ANDERSON und Mc. CLINTIC (1911): Journ. of infect. dis., **8**, 1. (zit. n. Klimmer, 20).
3. BEHRING (1894): Bekämpfung der Infektionskrankheiten, Infektion und Desinfektion, Leipzig.
4. BENK (1952): Über Tego 51, ein neues Desinfektionsmittel f. d. Milchwirtschaft. Mitteilungen a. d. chem. Landesuntersuchungsamt Reutlingen, Milchwissenschaft **7**, 6—8.
5. BRAUSS (1952): Rideal Walker Test an Tego 51 und Tego 103 G, Gutachten v. 9. 6. 1952.
6. BURRI und CARLBERG: Zit. n. Klimmer und Schönberg (21).
7. DAHMEN (1941): Lehrbuch d. Veterinär-Hygiene, Berlin (Paul Parey).
8. ESMARCH (1889): Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten **6**, 67.
9. FRIEDENTAL (1919): Zit. n. Reichel (29).
10. GEPPERT (1889): Zur Lehre v. d. Antiseptics, Berl. Klinische Wochenschrift, 789.
11. GISSKE (1952): Über die keimtötende Wirkung handelsüblicher, in der Milchwirtschaft gebräuchlicher Reinigungs- und Desinfektionsmittel, sowie über Desinfekt.mittel neuerer Art. Milchwissenschaft **7**, 75—85.
12. — (1953): Zur Gewinnung keimarmer Milch mit Melkmaschinen. Der Lebensmitteltierarzt **4**, 158—160.
13. GRUBER (1892): Zentralbl. f. Bakteriolog., Parasitenk. u. Infekt.krankh. **11**, 115, zit. n. Klimmer (20).
14. HALLMANN (1950): Bakteriologie und Serologie, Stuttgart (Georg Thieme).
15. HAILER (1919): Arbeit a. d. Reichsgesundheitsamt, 51, 556.
16. — (1920): **52**, 253 u. 670, zit. n. Klimmer (20).
17. HERRMANN und PREUSS: Zit. n. Gißke (11).
18. JANKE (1946): Arbeitsmethoden der Mikrobiologie I., 2. Auflage, Dresden u. Leipzig (Th. Steinkopf).
19. KRONIG und PAUL (1897): Zeitschrift f. Hygiene u. Infekt.krankheiten **25**, 1.
20. KLIMMER (1923): Technik und Methodik der Bakteriolog. u. Serologie, Berlin (Julius Springer).
21. KLIMMER und SCHONBERG (1947): Milchkunde, 5. Auflage, Berlin (Rich. Schoetz).

22. KOCH (1881): Über Desinfektion, Mitteilungen d. Kaiserl. Gesundheitsamtes 1, 234.
23. LAUBENHEIMER (1909): Phenol u. seine Derivate als Desinfektionsmittel, Habilitationsschrift, Gießen.
24. LONCIN und FORSTER: Zit. n. Gißke (11).
25. NAUMANN (1952): Zeitschrift f. Hygiene 135, 161.
26. OSTERTAG (1952): Desinfektion 42, 111.
27. OTSUKI (1900): Untersuchungen über den Einfluß der Unterlage auf die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegenüber Milzbrandsporen, Hygienische Rundschau, 10, 153, zit. n. Laubenheimer (23).
28. PRUCHA, HARDING und WEETER: Zit. n. Klimmer und Schönberg (21).
29. REICHEL (1931): Desinfektions- u. Sterilisationslehre I im Handbuch path. Mikroorganismen III, 2.
30. SCHMITZ (1953): Amphotere oberflächenaktive Stoffe als Wasch- und Desinfektionsmittel. Sonderdruck Fette u. Seifen 15, 10.
31. SCHNEIDER und SELIGMANN (1908): Zentralblatt f. Hygiene u. Infektionskrankheiten 58, 413, zit. n. Klimmer (20).
32. SCHÖNBERG (1952): Zusätzliche Benutzung wirksamer Desinfektionsmittel. Die Molkereizeitung 6, 181.
33. STEDING u. Co. (1953): Briefliche Mitteilungen vom 21. 11. 1953.
34. — (1953): Auszug a. d. Gutachten über d. Prüfung von Stecorit im Institut f. Milchhygiene der Bundesversuchs- u. Forschungsanstalt f. Milchwirtschaft in Kiel vom 12. Juni 1953.

Zum Schluß möchte ich

Herrn Professor Dr. E. Roots

und

Herrn Professor Dr. H. Haupt

für die Überlassung des Themas, für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung und das stete Interesse an meiner Arbeit herzlich danken.

LEBENS LAUF

Am 25. Oktober 1924 wurde ich als Sohn des Reg. Inspektors Erich L a h d e und seiner Ehefrau Else, geb. Reblin, in Stettin geboren.

In Stettin besuchte ich vier Jahre die Grundschule, anschließend die Barnim-Mittelschule. Nach der Umschulung 1940 auf die Staatliche Bugenhagen-Schule, Oberschule für Jungen in Stettin-Pölitz, besuchte ich diese Schule bis zur Einberufung zur Wehrmacht.

Nach der Entlassung aus der Kriegsgefangenschaft im August 1945 war eine Rückkehr nach Stettin nicht möglich, da die Stadt polnisches Gebiet wurde, ich wohne seitdem in Lüneburg.

Das Studium der Veterinärmedizin begann ich im Sommersemester 1947 an der Justus Liebig-Hochschule zu Gießen und legte im Oktober 1950 die Tierärztliche Vorprüfung, im August 1953 die Tierärztliche Prüfung in Gießen ab. Anschließend widmete ich mich der vorliegenden Arbeit.

Nach Ableistung der Praktikantenzeit an den Veterinärkliniken der Justus Liebig-Hochschule in Gießen erhielt ich die Approbation als Tierarzt.